

Modifizierung von Titanimplantatoberflächen mit antimikrobiellen
Polymerbeschichtungen für die Anwendung bei Extremitätenprothesen

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina

zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Magdalena Agnes Sluszniak
aus Kattowitz / Polen

1. Referent: Professor Dr. Henning Menzel
2. Referent: Honorarprofessor Dr. Stefan Sostmann
eingereicht am: 12.09.2012
mündliche Prüfung (Disputation) am: 30.11.2012

Druckjahr 2013

Vorveröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Publikationen

Calliess, T., Sluszniak, M., Heuer, W., Winkel, A., Bartsch, I., Witte, F., Stiesch, M., Menzel, H. & Windhagen, H.: TExoPro-Antimikrobielle, biokompatible Oberflächenbeschichtung für ein permanentes infektfreies Haut-Implantat-Interface in der Konzeption von osseointegrierten, transcutan ausgeleiteten Extremitätenprothesen. Orthopädie-Technik 05: 340-346 (2011).

Calliess, T., Sluszniak, M., Winkel, A., Pfaffenroth, C., Dempwolf, W., Heuer, W., Menzel, H. & Windhagen, H.: Antimicrobial surface coatings for a permanent percutaneous passage in the concept of osseointegrated extremity prosthesis. Biomedizinische Technik: online veröffentlicht 26.02.2012.
doi: 10.1515/bmt-2011-0041.

Tagungsbeiträge

Sluszniak, M., Pfaffenroth, C., Dempwolf, W., Gamble, L. J., Castner, D. G. & Menzel, H.: Design of Ultra Thin Polymeric Coatings with Antimicrobial Effect. (Poster) European Conference on Biomaterials, Lausanne, Schweiz (2009).

Sluszniak, M., Pfaffenroth, C., Dempwolf, W., Gamble, L. J., Castner, D. G. & Menzel, H.: Ultradünne Polymerbeschichtungen mit antimikrobieller Wirksamkeit. (Poster) Thüringer Grenz- und Oberflächentage, Friedrichsroda (2009).

Dempwolf, W., Pfaffenroth, C., Sluszniak, M., Adden, N., Gamble, L. J., Castner, D. G. & Menzel, H.: Biomedical challenges for analytical methods, Amsterdam (2009).

Winkel, A., Stumpp, S. N., Heuer, W., Grade, S., Pfaffenroth, C., Sluszniak, M., Menzel, H. & Stiesch, M.: Etablierung einer Methodik zur Bewertung innovativer intraoraler Implantatoberflächen. (Poster) Deutscher Zahnärztetag, München (2009).

Sluszniak, M., Winkel, A., Pfaffenroth, C., Dempwolf, W., Stiesch, M., Calliess, T., Windhagen, H. & Menzel, H.: Innovative Antibacterial Surface for Osseointegrated, Transcutaneous Exoprotheses. (Poster) Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, Heilbad Heiligenstadt (2010).

Dempwolf, W., Pfaffenroth, C., Sluszniak, M., Lorenz, C., Hoffmann, A., Winkel, A., Stiesch, M., Windhagen, H. & Menzel, H.: Design polymer interlayers to improve implant surfaces. Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft, Braunschweig (2010).

Dempwolf, W., Lorenz, C., Pfaffenroth, C., Slusznia, M., Hoffmann, A., Winkel, A., Heuer, W., Stiesch, M., Gross, G., Windhagen, H. & Menzel, H.: Ultrathin polymer layers as custom made solution for medical applications. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, Heilbad Heiligenstadt (2010).

Stiesch, M., Winkel, A., Stumpp, S. N., Heuer, W., Grade, S., Pfaffenroth, C., Slusznia, M., & Menzel, H.: New antibacterial coating for titanium implants. (Poster) 88th General Session IADR, Barcelona, Spanien (2010).

Poth, N., Slusznia, M., Waßmann, M., Lorenz, C., Pfaffenroth, C., Dempwolf, W. & Menzel, H.: Polymer Coatings for Biomedical Applications. (Poster) 2. Workshop Neue Horizonte für metallische Biomaterialien, Geesthacht (2011).

Pfaffenroth, C., Slusznia, M., Dempwolf, W., Winkel, A., Stiesch, M. & Menzel, H.: Self assembling polymers as antibacterial implant coating. 9th International Symposium on Frontiers in Biomedical Polymers-FPBS, Madeira, Portugal (2011).

Calliess, T., Heuer, W., Winkel, A., Bartsch, I., Slusznia, M., Stiesch, M., Menzel, H., Witte, F. & Windhagen, H.: Antimicrobial, biocompatible surface coatings for a permanent transcutaneous passage in the concept of osseointegrated limb prosthesis. (Poster) ORS Annual Meeting, Long Beach, CA/USA (2011).

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die durch ihre fachliche, aber auch persönliche Unterstützung zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Meinem Mentor Prof. Dr. Henning Menzel danke ich besonders für die Bereitstellung des interessanten Themas sowie die Betreuung und Unterstützung während dieser Zeit.

Ich freue mich, dass Prof. Dr. Stefan Sostmann das Korreferat übernimmt und möchte mich dafür herzlich bedanken.

Die Dissertation fand im Rahmen des BMBF-Projekts „TExoPro“ statt: Technische Realisierung von transkutanen, knochenverankerten Extremitätenprothesen zur Verbesserung der Mobilität und Sicherheit bei amputierten Patienten. Für die finanzielle Unterstützung durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) möchte ich mich bedanken. An dieser Stelle danke ich auch allen Projektpartnern für die gute Kooperation. Ich danke der Firma Otto Bock Healthcare GmbH für die Bereitstellung der Titanprobekörper. Vor allem möchte ich mich bei Dr. Andreas Winkel für die gute Zusammenarbeit und die anregenden Diskussionen bedanken. Zudem danke ich Dr. Andreas Winkel sowie Marly Dalton und Sebastian Grabe für die Durchführung der Untersuchungen an der Medizinischen Hochschule.

Mein großer Dank gilt auch den ehemaligen und aktiven Mitarbeitern des Arbeitskreises Menzel für die tolle Atmosphäre, die gruppendedynamischen Veranstaltungen und die ständige Hilfsbereitschaft. An erster Stelle möchte ich mich sehr bei Dr. Wibke Dempwolf für die XPS und AFM Messungen bedanken. Sie hat mich mit ihrer Diskussionsbereitschaft und neuen Ideen stets unterstützt. Ich danke Dr. Cornelia Pfaffenroth und Marco Waßmann (MSc.) für das nette Büroklima. Zudem danke ich Marco Waßmann und Christian Tolle für die interessanten Ergebnisse aus ihrem Forschungspraktikum, die ich für meine Arbeit verwenden konnte. Bei Dipl.-Chem. Bianca Tiedemann möchte ich mich für die Durchführung der TGA Messungen bedanken. Dipl.-Chem. Andreas Bertz danke ich für die Messungen an der wässrigen GPC und die Geduld bei meinen administrativen Problemen. Für die Hilfsbereitschaft bei allen möglichen Fragen und Problemen möchte ich mich auch bei Gabi Schirmer und Christa Vogel recht herzlich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt der tollen Runde an der Richtbank mit Rolf Harrendorf, Anita Scherbarth, Dr. Dirk Eiting, Birgit Niehoegen, Dipl.-Chem. Maria Stern, Dr. Cornelia Pfaffenroth, Dr. Claudia Grote und Dipl.-Chem. Kristin Voiges. Wir hatten eine schöne und lustige Zeit, die mir stets in guter Erinnerung bleiben wird - danke Euch dafür!

An dieser Stelle möchte ich mich auch nochmals bei Rolf Harrendorf für sein Handwerk bedanken. Er hatte stets eine Lösung parat und entwickelte in Zusammenarbeit mit Herrn Bernd Sladeczek den Spin-Coater NANOMAG-DA.

Für die Durchsicht des Manuskripts danke ich Dr. Olaf Helmecke, Dr. Cornelia Pfaffenroth, Dr. Wibke Dempwolf und Dr. Andreas Winkel.

Ich möchte mich auch bei Dipl.-Chem. Maria Stern für die tolle Zeit während des Studiums und der Promotion bedanken, es ist schön eine gute Freundin im Arbeitskreis zu haben.

In diesem Zusammenhang möchte ich auch bei meinen Uni-Mädels Maria, Lilli und Martini für die lustige Zeit während des Studiums, aber auch außerhalb der Uni danke sagen!

Meiner Freundin Carina danke ich für unsere lange Freundschaft, du hast immer ein offenes Ohr für mich gehabt.

Mein Dank gebührt auch meiner Familie, die mich durch mein Studium und meine Promotion begleitet hat.

Zuletzt möchte ich meinem Freund Florian von ganzen Herzen danken, ohne Dich wäre vieles nicht möglich gewesen! Du hast mich stets unterstützt, motiviert und auch viel Geduld und Verständnis in dieser Zeit bewiesen. DANKE

Für Mama,
für Florian.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Aufgabenstellung	5
2. Modifizierung von Oberflächen	7
2.1 Anbindung an Implantatoberflächen	8
2.2 Entwicklung antimikrobieller Oberflächen	13
2.2.1 Natürliche antimikrobielle Peptide	14
2.2.2 Synthetische antimikrobielle Polymere	17
3. Grundlagen	25
3.1 Copolymerisation	25
3.1.1 Bestimmung der Copolymerisationsparameter	27
3.1.2 Das Q, e-Schema	27
3.2 Oberflächenanalytik	28
3.2.1 Ellipsometrie	28
3.2.2 Kontaktwinkel	33
3.2.3 Rasterkraftmikroskopie	35
3.2.4 Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS)	39
4. Synthese und Charakterisierung der Polymere	45
4.1 Auswahl der Comonomere	45
4.2 Freie radikalische (Co)Polymerisation	48
4.2.1 Radikalische Homopolymerisation	49
4.2.2 Poly(DMMEP-co- <i>hexyl</i> /DMAEMA)	51
4.2.3 Poly(DMMEP-co- <i>methy</i> /DMAEMA)	55
4.2.4 Poly(DEVP-co- <i>methy</i> /DMAEMA)	58
4.2.5 Poly(AEMA-co- <i>hexyl</i> /DMAEMA)	60
4.3 Zusammenfassung	63
5. Anbindung der Polymere	65
5.1 Anbindung über Phosphonatestergruppen	66
5.1.1 Ergebnisse zu Schichtdicke und Kontaktwinkel	67
5.1.2 Ergebnisse der XPS Untersuchungen	72
5.1.3 Ergebnisse der AFM Untersuchungen	82
5.2 Anbindung über primäre Amingruppen	86
5.2.1 Ergebnisse zur Anbindung von Poly(AEMA)	87
5.2.2 Ergebnisse zu XPS Untersuchungen von Poly(AEMA)	94

5.2.3 Ergebnisse der AFM Untersuchungen von Poly(AEMA)	98
5.2.4 Ergebnisse zur Anbindung der Copolymere	100
5.2.5 Ergebnisse zu AFM Untersuchungen der Copolymere	102
5.3 Vergleich der beiden Anbindungsstrategien	104
5.4 Zusammenfassung	106
6. Antimikrobielle Wirksamkeit und Biokompatibilität	109
6.1 Untersuchungsmethoden auf antimikrobielle Wirksamkeit	109
6.2 Screening potenziell kontaktbakterizider Oberflächen	110
6.2.1 Ergebnisse des Screenings von Poly(DMMEP-co- <i>hexyl</i> /DMAEMA)	112
6.2.2 Ergebnisse des Screenings von Poly(DMMEP-co- <i>methy</i> /DMAEMA)	114
6.2.3 Ergebnisse des Screenings von Poly(AEMA-co- <i>hexyl</i> /DMAEMA)	115
6.2.4 Ergebnisse des Screenings der Homopolymere	117
6.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse	118
6.3. Untersuchung an teilbeschichteten Proben	119
6.3.1 Entwicklung von Teilbeschichtungen durch Plasmabehandlung	119
6.3.2 Entwicklung von Teilbeschichtungen unter Einsatz einer Schablone	122
6.3.3 Antimikrobielle Untersuchungen teilbeschichteter Proben	124
6.4 Biokompatibilität der Polymerbeschichtungen	127
6.4.1 Untersuchungsmethoden zur Biokompatibilität	128
6.4.2 Ergebnisse der Untersuchungen zur Biokompatibilität	129
6.5 Einfluss von Sterilisationsverfahren	134
6.5.1 Ergebnisse zur Bakterienadhäsion in Abhängigkeit von der Sterilisationsmethode	137
6.5.2 Ergebnisse zu Schichtdicke und Kontaktwinkel	140
6.5.3 Ergebnisse der XPS Untersuchungen	142
6.5.4 Ergebnisse der AFM Untersuchungen	154
6.5.5 Weitere Ergebnisse zum Einfluss der Gammasterilisation	157
6.5.6 Zusammenfassung	160
7. Zusammenfassung und Ausblick	163
8. Experimenteller Teil	167
8.1 Materialien	167
8.1.1 Verwendete Lösungsmittel	167
8.1.2 Verwendete Chemikalien	168
8.1.3 Substrate	168
8.2 Darstellung der Monomere	169
8.2.1 Darstellung von Dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP)	169
8.2.2 Darstellung von <i>hexyl</i> -2-Dimethylaminoethylmethacrylat (<i>hexyl</i> /DMAEMA)	170

8.3 Darstellung der Polymere	171
8.3.1 Poly(dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat): Poly(DMMEP)	171
8.3.2 Poly(aminoethylmethacrylathydrochlorid): Poly(AEMA)	171
8.3.3 Poly(diethylvinylphosphonat): Poly(DEVP)	172
8.3.4 Poly(dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat-co-2-dimethylaminoethyl-methacrylat): Poly(DMMEP-co-DMAEMA)	173
8.3.5 Poly(dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat-co-2-(methacryloyoxy)ethyl-trimethylammoniumchlorid): Poly(DMMEP-co- <i>methyl</i> /DMAEMA)	174
8.3.6 Poly(diethylvinylphosphonat-co-2-(methacryloyoxy)ethyltrimethylammoniumchlorid): Poly(DEVP-co- <i>methyl</i> /DMAEMA)	176
8.3.7 Poly(aminoethylmethacrylathydrochlorid-co- <i>hexyl</i> -2-dimethylaminoethylmethacrylat): Poly(AEMA-co- <i>hexyl</i> /DMAEMA)	177
8.4 Polymeranaloge Reaktion	179
8.4.1 Poly(dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat-co- <i>hexyl</i> /DMAEMA)	179
8.5 Verwendete Geräte und Methoden	180
9. Literatur	185
10. Anhang	191

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

A	Amplitude
AEMA	2-Aminoethylmethacrylathydrochlorid
AFM	Atomic Force Microscopy (Rasterkraftmikroskopie)
AIBN	Azoisobutyronitril
AMP	Antimikrobielle Peptide
ATRP	Atomic Transfer Radical Polymerization
BMP	Bone Morphogenetic Protein
bm	breites Multiplett (NMR)
bs	breites Singulett (NMR)
c	Lichtgeschwindigkeit
CaH ₂	Calciumhydrid
CDCl ₃	deutertes Chloroform
CLSM	konfokale Laser Scanning Mikroskopie
DCPO	Dicumylperoxid
d	Duplett (NMR)
dd	Duplett von Duplett (NMR)
dt	Duplett von Triplet (NMR)
DEVP	Diethylvinylphosphonat
DMAEMA	2-Dimethylaminoethylmethacrylat
DMMEP	Dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dn/dc	Brechungsinkrement
DOPA	3,4-Dihydroxyphenylalanin
D ₂ O	deutertes Wasser
EA	Elementaranalyse
E _B	Bindungsenergie
E _K	kinetische Energie
E _w	Funktion der Arbeit
EPS	extrazelluläre polymere Substanzen
ESCA	Electron Spectroscopy for Chemical Analysis
FTIR	Fourier-Transform-Infrarot
GPC	Gelpermeations-Chromatographie

GMA	Glycidylmethacrylat
h	Plancksches Wirkungsquantum
HCl	konzentrierte Salzsäure
<i>hexyl</i> /DMAEMA	<i>hexyl</i> -2-Dimethylaminoethylmethacrylat
IR	Infrarot (Spektroskopie)
k	Extinktionskoeffizient, Geschwindigkeitskonstante
LDH	Lactatdehydrogenase
M	Monomer
[M _i]	Konzentration von Monomer i in der Monomerenmischung
[m _i]	molarer Anteil der Monomereinheit i im Polymer
m	Multiplett (NMR)
MEA	2-Methoxyethylacrylat
MeOH	Methanol
M _n	Molekulargewicht (Zahlenmittel)
M _w	Molekulargewicht (Gewichtsmittel)
<i>methy</i> /DMAEMA	2-(Methacryloyloxy)ethyltrimethylammoniumchlorid
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
\tilde{N}	komplexer Rekraktionsindex
n	Brechungsindex
NaOH	Natriumhydroxid
NASI	N-Acryloxysuccinimid
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
p	parallel zur Einfallsebene (Ellipsometrie)
PD	Polydispersität
PE	Polyethylen, Petrolether
PEG	Polyethylenglykol
PET	Polyethylenterephthalat
PLL	Poly- <i>l</i> -lysine
Poly(AEMA)	Poly(aminoethylmethacrylat)
Poly(DEVP)	Poly(diethylvinylphosphonat)
Poly(DMMEP)	Poly(dimethyl-(2-methacryloyloxethyl)phosphonat)
ppm	parts per million (10 ⁻⁶)
PP	Polypropylen
PVP	Poly(4-vinylpyridine)

QA	quartäre Gruppe
r_i	Copolymerisationsparameter
R^p, R^s	Reflektionsgrad
RAFT	Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	rounds per minute (Umdrehungszahl beim Spin-Coating)
s	senkrecht zur Einfallsebene (Ellipsometrie), Singulett (NMR)
SAM	Self Assembled Monolayer
T	Temperatur
T_{Onset}	Onset-Temperatur (TGA)
t	Zeit
TGA	Thermogravimetrische Analyse
THF	Tetrahydrofuran
ToF-SIMS	Time of Flight Secondary Ion Mass Spectrometry
v	Geschwindigkeit
VBP	Vinylbenzylphosphonatester
VP	4-Vinylpyridin
V50	2,2 Azobis(2-methylpropionamidin)dihydrochlorid
wt-%	Gewichtsprozent
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy (Röntgenphotoelektronenspektroskopie)
γ_{sl}	Grenzflächenspannung
$\gamma_{\text{sv}}, \gamma_{\text{lv}}$	Oberflächenspannung
δ	Phasendifferenz (Ellipsometrie) chemische Verschiebung (NMR)
Δ	Änderung der Phasendifferenz (Ellipsometrie)
θ_{adv}	vorderer (advancing) Kontaktwinkel
θ_{rec}	hinterer (receding) Kontaktwinkel
θ_{w}	Wenzel-Winkel
λ	Wellenlänge
ν	Frequenz des Lichtes
ψ	Winkel in der Ellipsometrie
ϕ	Brewster-Winkel

1. Einleitung

Bakterien sind in der Umwelt weit verbreitete Mikroorganismen und Bestandteil vieler ökologischer Systeme.^[1-4] Sie unterscheiden sich von anderen Organismen wie Algen, Pilzen, Pflanzen und Tieren, sowie uns Menschen durch das Fehlen eines Zellkerns. Ein Mensch der selbst nur aus etwa 10 Billionen Zellen besteht, trägt allein etwa zehnmal so viele Bakterien auf und in sich, die wichtige Funktionen für den menschlichen Körper übernehmen: Bakterien sind wichtige Bestandteile unseres Stoffwechsels und bilden im Darm eine verdauungsfördernde Flora; darüber hinaus bieten sie als Hautflora der Haut einen wirksamen Schutz vor pathogenen Mikroorganismen.^[5] Unser Immunsystem ermöglicht ein solches, gegenseitig förderliches Zusammenleben mit diesen harmlosen Mikroorganismen. Treten Mikroben jedoch als Krankheitserreger auf und es kommt zu einer bakteriellen Infektion durch sogenannte Pathogene, kann es für den Menschen gefährlich werden.

Durch den Einsatz von Antibiotika werden Infektionen durch Bakterien erfolgreich bekämpft. Allerdings führte die schnelle Anpassungsfähigkeit der Keime auf veränderte Umweltbedingungen zu einer zunehmenden Resistenzbildung gegenüber Antibiotika.^[6] Schon in den 50er Jahren wurden erste Bakterienstämme von *Staphylococcus aureus* gegen Penicillin unempfindlich. Durch die Entwicklung neuer Antibiotika konnte dem kurzfristig entgegen gewirkt werden. Inzwischen ist jedoch ein Anstieg der Resistenz auf 70 bis 80 % aller Stämme von *Staphylococcus aureus* gegenüber Penicillin zu verzeichnen.^[7] Diese Resistenzbildung wird durch den vermehrten Einsatz von Antibiotika nicht nur in der Humanmedizin, sondern auch in der Tierhaltung verstärkt. Eine Übertragung antibiotikaresistenter Bakterien auf Lebensmittel wie Fleisch und Milch und dadurch auf den Menschen ist dabei nicht auszuschließen.^[6, 7]

Das vermehrte Auftreten von Resistenzen sowie die stetig zunehmende Globalisierung von Wirtschaft und Reiseverkehr setzt die Bevölkerung zunehmenden Infektionsrisiken aus. Laut WHO-Statistik (2005) sind Infektionskrankheiten mit 41 % der Todesfälle weltweit die häufigste Todesursache.^[8] Zur Infektion kann es im klinischen Bereich durch hygienische Nachlässigkeit, aber auch infolge eines operativen Eingriffs beispielsweise nach einer Knochenfraktur kommen.^[9] Vor allem bei Risikopatienten wie Diabetikern setzen Komplikationen die Heilungsrate nach einer Operation herab. Der gestörte Glukosestoffwechsel kann zu Gefäßerkrankungen, Nervenleiden, aber auch Hemmung der Wundheilung führen. Oftmals kommt es bei Diabetikern nach einem Eingriff aufgrund von

Knochenfrakturen zu Infektionen, die eine Amputation der Gliedmaßen unabwendbar machen.^[10]

Die Amputation stellt eine unausweichliche Endsituation bei verschiedenen Arten von Erkrankungen und Verletzungen ohne Aussicht auf Rettung der betroffenen Extremität dar. Die häufigsten Ursachen für den Verlust beispielsweise der unteren Extremität sind mit über 90 % vaskuläre Ursachen, Traumata und Tumore. Nach einer Amputation steht die Rehabilitation des Patienten im Vordergrund.^[11] Eine Amputation hat neben den physiologischen Einschränkungen auch erhebliche psychische Belastungen zur Folge. Daher ist der Einsatz von Extremitätenprothesen notwendig.

Durch die Entwicklung von knochenersetzenden Prothesen außerhalb des Körpers, sogenannte Exoprothesen, konnte der Ersatz von amputierten Gliedmaßen realisiert werden und gehört mittlerweile zum medizinischen Standard. Die ersten Exoprothesen wurden über das Verfahren der Schafttechnik eingesetzt. Die Prothese wird dabei als künstlicher Gliedmaßenersatz an den menschlichen Bewegungsapparat mit Hilfe eines Schaftes, der über den Stumpf gezogen wird, angebunden. Diese Schafttechnik kann die Funktionalität und das ästhetische Erscheinungsbild verbessern, allerdings besteht weiterhin die Problematik in der Befestigung an der Restextremität. Das Weichteilgewebe des Stumpfes wird unphysiologisch belastet, so dass Hauterkrankungen und Stumpffödeme entstehen können.^[12] Studien von HAGBERG et al. belegen, dass 18 % der Patienten ihre Prothese nicht trugen und 72 % der Träger über mangelnde Feuchtigkeits- und Temperaturregulation klagten.^[13] Vor allem aber ist eine eingeschränkte Mobilität unabwendbar. Die Entwicklung eines neuen Verfahrens der osseointegrierten Exoprothesen führte zu einem Ersatz der Schafttechnik.

Das Verfahren der Osseointegration von Exoprothesen ist auf die Forschungen von BRANEMARK et al. zurückzuführen. Der Begriff Osseointegration wurde erstmals in den 50er Jahren geprägt. Es beschreibt eine direkte Verbindung zwischen dem lebendem Knochen und dem tragfähigen Implantat.^[14] Die ersten Ansätze von osseointegrierten Titanimplantaten wurden in der Dentalmedizin realisiert und stellen das Konzept als eine gute Methode bei Zahnverlust dar.^[14, 15] Durch die Weiterentwicklung konnte das Konzept erfolgreich auf eine Anwendung in der Orthopädie übertragen werden.^[16, 17] Die direkte Verankerung ermöglicht die Prothese zuverlässig in den Knochen einzubauen und gewährleistet bei andauernder Belastung eine gute Stabilität.^[15] Dem Patienten wird eine verbesserte Kontrolle des Bewegungsablaufs und zusätzlich durch den fehlenden Schaft eine natürliche Bewegung erlaubt. Zudem tritt keine unphysiologische Belastung der Weichteile wie Haut und Muskeln, sowie Behinderung des Wärme- und Feuchtigkeitsaustausches durch den Schaft auf. Im

Vergleich zu der Schafttechnik führten diese Vorteile insgesamt zu einer qualitativen Verbesserung der Rehabilitation der Patienten.^[18]

Trotz der Vorteile bei Mobilität und Rehabilitation hat das Verfahren der Osseointegration von Exoprothesen einen entscheidenden Nachteil. Die knochenverankerte Prothese besitzt eine latente Infektionsgefahr am Hautdurchtritt (siehe Abbildung 1.1). Eine klinische Studie von TILLANDER et al. zeigte, dass der Erfolg des Einsatzes von osseointegrierten Titanimplantaten für Beinprothesen durch das Problem der Infektion limitiert wird. In einem Kollektiv aus 39 Patienten wurden letztlich bei 17 Patienten Zeichen einer Infektion am Hautdurchtritt nachgewiesen. Es handelte sich dabei überwiegend um oberflächliche Infekte, dennoch konnte in sechs der Fälle eine tiefergehende Infektion nicht ausgeschlossen werden.^[19]

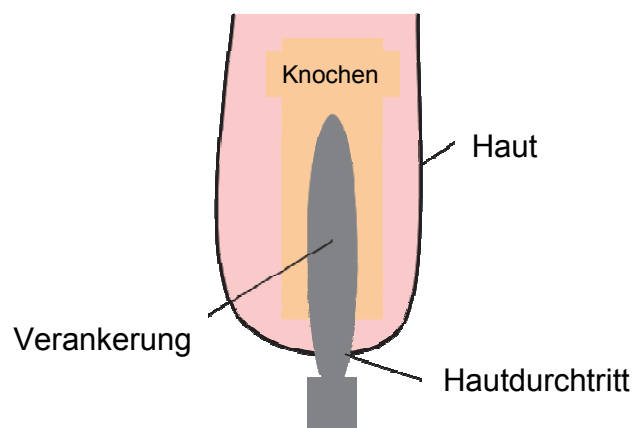


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung einer osseointegrierten Exoprothese als Ersatz für die untere Extremität mit der Verankerung im Femur und dem Hautdurchtritt an der Haut-Implantat-Grenzfläche.

Die Gefahr durch die Infektion geht dabei nicht allein durch einzelne Bakterien aus, sondern liegt vor allem in der Bildung eines Biofilms.^[20, 21] Die Bakterien als pathogene Keime siedeln sich an der Oberfläche an und entwickeln eine Überlebensstrategie, indem sie sich in symbiotischen Gemeinschaften in Form von Biofilmen zusammenschließen. Eine solche Aggregation von Bakterienzellen besteht neben den eigentlichen Mikroorganismen auch noch aus diversen extrazellulären polymeren Substanzen (EPS).^[22] Die EPS sind Polysaccharide, Proteine, Lipide und Nukleinsäuren, die zusammen Schlüsselmoleküle für Struktur, Funktion und Organisationsform von Biofilmen darstellen. Die Matrix aus den EPS schützt die Mikroorganismen und ermöglicht so den Aufbau langfristig stabiler Gemeinschaften, sogenannter „Mikrokonsortien“.^[20] Der Zusammenhalt der EPS-Matrix beruht auf physikalisch-chemischen sowie elektrostatischen Wechselwirkungen und bildet über viele

Bindungsstellen ein Netzwerk aus. Der Biofilm ist eher heterogen aufgebaut, sorgt aber für eine gute Haftung an Oberflächen.^[23] Im Biofilm wird durch die EPS-Matrix für die Bakterien eine Umgebung geschaffen, in der ein Austausch von Erbsubstanzen zwischen den Zellen ermöglicht wird.^[21] Über ein Kommunikationsprinzip, das „Quorum-Sensing“, tauschen die Zellen sich durch Übertragung eines Signals untereinander aus und organisieren sich so im Biofilm.^[24, 25] Auf diese Weise können die Bakterien Kolonien ausbilden, ihre Aktivität regulieren und folglich durch Anpassung auf die Umgebung reagieren. Daher sind Bakterien im Biofilm viel resistenter als in ihrer planktonischen Lebensform.^[21, 23] Für die Resistenz der Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen werden verschiedene Ursachen postuliert: Die Penetration der Wirkstoffe in die Biofilmmatrix wird gehemmt; das langsame Wachstum der Bakterien im Biofilm verursacht nur eine verlangsamte Aufnahme der Wirkstoffe; ständige physiologische Änderung der Bakterienzellen im Biofilm setzen die Wirkung des Wirkstoffs herab.^[6, 26] Es wurden erste Strategien entwickelt, die die Biofilmbildung kontrollieren sollen, indem eine Wechselwirkung mit dem „Quorum-Sensing“-System dieses inaktiviert oder gar zerstört.^[27, 28] Allerdings ist diese Strategie sehr komplex, da für jedes Bakterium und folglich den Biofilm verschiedene Kommunikationsprinzipien zugrunde liegen. Daher ist eine Verhinderung der Biofilmbildung nur schwer zu realisieren.

Um das Infektionsrisiko am Hautdurchtritt zu verhindern, scheint ein durchaus erfolgsversprechender Ansatz die Implantatoberfläche dahingehend zu modifizieren, dass bereits die Adhäsion der Bakterien verhindert wird. Gleichzeitig soll aber eine gute Weichgewebsadhäsion ermöglicht werden, so dass die Ansiedlung und Proliferation von körpereigenen Zellen positiv beeinflusst wird.

Zur Modifizierung von Oberflächen mit antimikrobieller Wirkung gibt es verschiedene Ansätze.^[29] Einige beruhen auf bakteriziden Beschichtungen wie der Freisetzung von Antibiotika^[30-32] oder Silberionen^[33-35]. Andere Beschichtungen verhindern bereits durch Antifouling-Eigenschaften, eine Adhäsion der Bakterien auf der Oberfläche und werden als bakterienabweisend beschrieben.^[36, 37] Sehr vielversprechend ist der Ansatz von synthetischen Polymeren, die eine kontaktbakterizide Wirkung aufweisen. Durch die Nachahmung des Wirkprinzips natürlicher antimikrobieller Peptide zeigen quartäre Ammoniumverbindungen die gewünschte antimikrobielle Wirkung.^[38-43]

Die meisten der synthetischen kontaktbakteriziden Polymere sind jedoch wenig selektiv und daher nicht für den Einsatz von Prothesenoberflächen geeignet. Die Problematik liegt darin, dass die Beschichtungen, die Bakterien abtöten, nicht gut für die Adhäsion von Körperzellen

geeignet sind. Die Schwierigkeit liegt in der Vereinigung der beiden ambivalenten Eigenschaften, sowohl antimikrobiell als auch biokompatibel, in einem System.^[44-46]

Auf der Basis von Copolymeren wurde ein erster Ansatz verfolgt, um selektiv wirkende Oberflächenbeschichtungen für die zahnmedizinische Anwendung zu entwickeln.^[47] Für das hier zur Anwendung kommende Prothesenmaterial Titan bzw. eine Ti6Al4V-Legierung bieten Copolymere zusätzlich die Möglichkeit über oberflächenaktive Gruppen an das Substrat unter Ausbildung von Schichten im Nanometerbereich anzubinden.^[48] Gleichzeitig haben solch dünne Beschichtungen den Vorteil, die mechanischen Eigenschaften des Implantatmaterials nicht zu beeinträchtigen, indem sie beispielsweise, die für das Einwachsen von Knochen notwendige Oberflächenstruktur nicht verändern.

Demnach gibt es nur wenig selektiv wirkende Polymerbeschichtungen, so dass vor allem die Entwicklung von Polymerbeschichtungen für einen aseptischen Hautdurchtritt bei Extremitätenprothesen weitere Forschung erfordert.

1.1 Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit ist es, antimikrobielle Polymerbeschichtungen zu entwickeln, die zur Modifizierung von Implantatoberflächen am Hautdurchtritt eingesetzt werden können. Diese sollen eine selektive Wirkung aufweisen, d.h. die Adhäsion von Bakterien verhindern und gleichzeitig die Anlagerung und Proliferation von körpereigenen Zellen positiv beeinflussen. Zudem sollen die Polymerbeschichtungen über einen einfachen Prozess auf die hier zur Anwendung kommenden Titansubstrate als Prothesenmaterial aufgebracht werden.

Es wird der Ansatz von synthetischen Polymeren verfolgt, indem quartäre Ammoniumverbindungen als antibakterielle Gruppe eingesetzt werden. Zur Anbindung an die Titansubstrate bzw. Titan(oxid)schicht werden bereits als oberflächenaktiv beschriebene Gruppen wie Phosphonatester verwendet.

Darauf aufbauend werden unterschiedliche Monomere in verschiedenen Zusammensetzungen copolymerisiert. Die Wahl der Comonomere soll dabei so erfolgen, dass die verschiedenen Copolymersysteme sich in bestimmten funktionellen Gruppen unterscheiden, aber dennoch miteinander verglichen werden können. In Anlehnung an die Arbeit von PAFFENROTH^[47] sollen Copolymerbeschichtungen hergestellt werden, die neben einer besseren Wirksamkeit auch eine Verbesserung der Biokompatibilität mitbringen. Es wird zudem ein neuer Ansatz verfolgt, über primäre Amine an die Titan(oxid)oberfläche anzubinden und damit die Herstellung von Beschichtungen zu vereinfachen. Durch die Herstellung verschiedener Copolymersysteme soll anhand von Tests auf antimikrobielle Wirksamkeit und

Biokompatibilität untersucht werden, inwieweit strukturelle Unterschiede im Copolymer die Eigenschaften, d.h. die gewünschte selektive Wirkung beeinflussen.

Für die Etablierung eines einfachen Synthesewegs werden die verschiedenen Monomere nach einem freien radikalischen Mechanismus copolymerisiert. Zur Bestimmung des Copolymerisationsverhaltens anhand von r -Parametern werden unterschiedliche Zusammensetzungen der Copolymere hergestellt. Die Charakterisierung der Copolymere erfolgt mittels ^1H -NMR-Spektroskopie, Elementaranalyse und Gelpermeations-Chromatographie.

Die Copolymere werden über einen einstufigen Spin-Coating Prozess auf die Titansubstrate immobilisiert. Der Nachweis der erfolgreichen Anbindung der resultierenden Polymerfilme soll durch Ellipsometrie, Kontaktwinkelmessungen, Röntgenphotoelektronenspektroskopie sowie Rasterkraftmikroskopie erfolgen. Ein Vergleich der verschiedenen Anbindungsgruppen soll zeigen, ob eine Anbindung über primäre Amine auch in stabilen Polymerfilmen resultiert. Dazu werden neben den Copolymeren, die Homopolymere auf die Titan(oxid)schicht aufgebracht und charakterisiert.

Die Untersuchungen in Hinblick auf die antimikrobielle Wirksamkeit und Biokompatibilität werden an der Medizinischen Hochschule in Hannover durchgeführt. Zur Identifikation der antimikrobiellen Wirkung werden Screenings an pathogen relevanten Keimen vorgenommen. Indem eine Methode zur Entwicklung teilbeschichteter Proben angestrebt wird, kann dabei die Wirksamkeit durch den direkten Kontakt mit der Polymerbeschichtung belegt werden. Die Biokompatibilität gegenüber humanen Dermisfibroblasten wird mittels eines an der Medizinischen Hochschule in Hannover entwickelten Verfahrens untersucht. Ausgehend von den *In-vitro*-Untersuchungen soll die Stabilität der Polymerbeschichtungen gegenüber Sterilisationsprozessen überprüft werden. Anhand von zwei ausgewählten Sterilisationsverfahren sollen mögliche Effekte insbesondere auf die antimikrobielle Wirksamkeit der Polymerbeschichtungen untersucht werden.

2. Modifizierung von Oberflächen

Im Bereich der Biomedizintechnik wird Titan bevorzugt als Material für dentale aber auch orthopädische Implantate eingesetzt. Es zeichnet sich durch hervorragende mechanische Eigenschaften sowie gute Biokompatibilität aus, was Voraussetzungen für den Einsatz als Biomaterial sind. Das reine Titan, auch als Grad 4 bezeichnet, mit weniger als 1 % Verunreinigungen wie Eisen und Sauerstoff wird bevorzugt in der Dentalmedizin verwendet. Die Legierung Ti6Al4V (Grad 5) mit 6 % Aluminium und 4 % Vanadium kommt in der Orthopädie zum Einsatz. Die Zusätze der Legierung steigern nochmals die mechanischen Eigenschaften wie Bruchfestigkeit und Stabilität gegenüber Alterung bzw. Abnutzung.^[49, 50] PLAMQUIST et al. untersuchten *in vivo* den Einsatz von Titanimplantaten in Kaninchen und verglichen beide Formen (Grad 4 und 5) unter Betrachtung der morphologischen Eigenschaften. Die Analyse der Oberflächentopographie lieferte für beide Materialien vergleichbare Resultate, so dass keine signifikanten Unterschiede in der Oberflächenstruktur beobachtet wurden. Dabei konnte sowohl reines Titan als auch die Legierung eine Osseointegration vorweisen.^[49]

Der Einsatz von Titan als Implantatmaterial ist aufgrund seiner guten biokompatiblen Eigenschaften sehr weit verbreitet. Dennoch kann es nach dem operativen Eingriff zu Infektionen am Haut-Implantat-Interface kommen, was den erfolgreichen Einsatz sogleich wieder limitiert.^[19] Ein Lösungsansatz ist die Modifizierung von Implantatoberflächen, um die Infektionen am Hautdurchtritt zu unterbinden. Dabei sollen Beschichtungen die Adhäsion der Bakterien verhindern, gleichzeitig aber das Anwachsen des Implantats begünstigen. Von besonderem Interesse sind Beschichtungen im Nanometerbereich, die die Oberfläche ausreichend maskieren und die Eigenschaften des Gesamtsystems bestimmen. Zugleich verändern die ultradünnen Schichten nicht die mechanischen Eigenschaften des Materials oder die für das Einwachsen des Knochens notwendigen Oberflächenstrukturen.

Im Folgenden werden verschiedene Strategien zur Anbindung an Implantatoberflächen beschrieben, wobei auf die Methoden zur Beschichtung mit Polymeren fokussiert wird. Anschließend werden die unterschiedlichen Ansätze zur Entwicklung antimikrobieller Oberflächen dargelegt.

2.1 Anbindung an Implantatoberflächen

Bei der Anbindung an Substratoberflächen wird grundsätzlich zwischen Physisorption und Chemisorption unterschieden. Bei der Physisorption ist die Bindung physikalischer Natur und kann über hydrophobe oder elektrostatische Wechselwirkungen erfolgen. Ein Beispiel dafür ist die Layer-by-Layer Technik, bei der Schichten aus Polymeren unterschiedlicher Ladung aus Lösung abgeschieden werden. Die Bindung zwischen den Polymeren wird durch die Freisetzung der Gegenionen und somit durch die Zunahme der Entropie begünstigt. Die Stärke der Bindung wird über die Nähe bzw. Umgebung der geladenen Spezies untereinander bestimmt. So entscheiden Parameter wie Löslichkeit, pH-Wert und Ionenstärke über die Ausrichtung des Polymers auf der Oberfläche. Der Nachteil dieser Bindungsart ist allerdings ihre Instabilität.^[51] Da bei der Modifizierung von Implantatoberflächen eine stabile Beschichtung notwendig ist, ist diese Methode weniger geeignet.

Bei der Chemisorption sind die Wechselwirkungen chemischer Natur und beschreiben die kovalente Anbindung des Polymers an die Substratoberfläche. Häufig verwendete Beschichtungssysteme sind selbstorganisierende Monoschichten, die auch SAMs (Self-Assembled Monolayers) genannt werden. Sie bestehen aus einer oberflächenaktiven Kopfgruppe, die kovalent an die Substratoberfläche bindet, einem Spacer in Form einer Alkylkette und einer terminalen funktionellen Gruppe.^[52] Über die terminale Funktionalität kann eine Modifizierung der Oberflächeneigenschaften ermöglicht werden.^[53] Eine Übersicht über verschiedene Self-Assembled Monolayer ist in der weiterführenden Literatur zu finden.^[54] Die häufigsten Monolayer sind Alkylsilane für Hydroxyoberflächen oder Alkylthiole für Substrate aus Gold und Silber. Die selbstorganisierenden Monoschichten weisen eine hohe Stabilität gegenüber thermischen, chemischen und mechanischen Einflüssen auf.

Zur Anbindung an Titan(oxid)oberflächen eignen sich vor allem Alkylphosphonsäuren bzw. deren Ester aufgrund ihrer erhöhten Hydrolysestabilität im Vergleich zu Silanen.^[55, 56] Untersuchungen von TOSATTI et al. beschäftigten sich mit selbstbindenden Monolayern aus Dodecyl- und 12-Hydroxydodecylphosphat. Über einen einfachen Tauchprozess wurde eine erfolgreiche Anbindung der Monolayer auf Titanoberflächen unterschiedlicher Rauigkeit erreicht.^[53] Der Arbeitskreis um SCHWARTZ untersuchte die Bindungsstärke von Alkylphosphonsäuren auf Titan. Durch wiederholtes Aufsprühen auf polierte Titanfolien und anschließender thermischer Behandlung konnten stabile Filme erhalten werden. Mittels IR-Spektroskopie wurde gezeigt, dass die Filme dem Reinigen mit Lösungsmittel und selbst sogenannten „Peelingtests“ standhielten. Dabei wurde beobachtet, dass die thermische

Behandlung zu einer Stabilisierung der Schicht führte.^[57] Eine Erklärung für die Stabilisierung liefern die Arbeiten von GUERRO et al. Sie untersuchten die Immobilisierung verschiedener Derivate von Phosphonaten und Phosphinaten mit unterschiedlicher Anzahl an Esterendfunktionen an Titan(oxid)partikeln. Mittels IR-Spektroskopie wurde nach der thermischen Behandlung eine Abnahme der Estergruppe beobachtet. Es wurde dahingehend diskutiert, dass die Behandlung eine Spaltung der Estergruppe bewirkt und gleichzeitig die Phosphonsäure eine Bindung mit der Metalloxidschicht eingeht. Folglich wird durch die Bildung einer Metall-Sauerstoff-Phosphor-Bindung (M-O-P-Bindung) die Anbindung an die Titan(oxid)schicht stabilisiert. Es wurde ein Model postuliert, dass die Anbindung über eine bi- aber auch tridentate Struktur der Phosphonatderivate beschreibt. Gleichzeitig konnte gezeigt werden, dass sich neben Phosphonsäuren auch deren Ester zur Anbindung an Titan eignen.^[58] Aussagen zu dem Bindungsmechanismus sind jedoch spekulativ und beschreiben lediglich Modelle, die auf eine kovalente Bindung zwischen der Phosphonsäure und der Titan(oxid)schicht schließen lassen. Die Arbeiten von TEXTOR et al. beschäftigten sich intensiver mit einem möglichen Bindungsmechanismus. Sie untersuchten die Anbindung von Monoschichten der Octadecylphosphorsäureester auf Tantaloxidoberflächen.^[59] Eine Charakterisierung mittels Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) und ToF-SIMS zeigen eine direkte Bindung zwischen der Phosphatendgruppe und den Tantalionen der Substratoberfläche. Ausgehend von einer stabilen Form der Tantalionen als Ta₂O₅-Spezies und somit einer starken Bindung zwischen Tantalionen und dem Sauerstoff, wird vermutet, dass die Oxide unter Ausbildung eines energetisch günstigen Intermediats durch Phosphat ersetzt werden. Über eine Deprotonierung der Phosphorsäuregruppe kann schließlich eine Anbindung an das positiv geladene Tantalion erfolgen und eine Monoschicht ausgebildet werden. Aufgrund der bevorzugten Koordinationszahl 7 des Tantalions kann eine Phosphatgruppe bidentat oder zwei Phosphatgruppen monodentat an das Tantalatom koordiniert werden (siehe Abbildung 2.1).

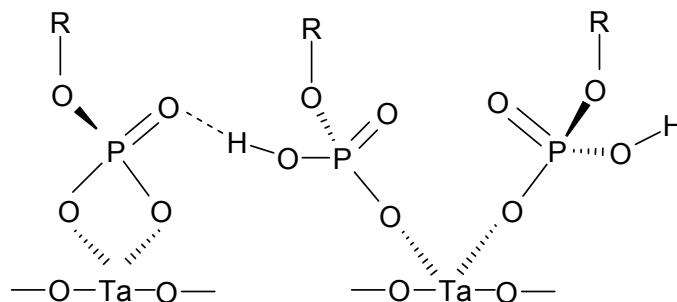


Abbildung 2.1: Bidentate (links) und monodentate (rechts) Koordination der Phosphor-Sauerstoff-Bindung an ein Tantalion und zusätzliche Ausbildung von Wasserstoff-Bindungen.^[59]

Sterische Hinderungen erschweren eine Koordinationszahl von 8 und schließen eine tridentate Anordnung aus. Zusätzlich führt eine Kombination aus mono- und bidentater Anbindung zur Bildung intramolekularer Wasserstoffbindungen und folglich zu einer Stabilisierung der Monoschicht. Dabei zeigen sich insgesamt Parallelen zu der Bindung von Thiolen an Goldoberflächen. Die oberflächenaktiven Gruppen beider Systeme weisen eine „Tail-up“-Orientierung sowie einen Neigungswinkel der Kohlenwasserstoffe von 30° zur Oberflächensenkrechten auf.^[60]

Bei der Anbindung von rutheniumhaltigen Komplexen an Titan(oxid) über Carboxyl- und Phosphonatgruppen wurde ebenfalls eine mono- und bidentate Koordination beobachtet. Dabei wurde für die Phosphonate eine stabilere Bindung als für die Carboxylgruppen an das Titan festgestellt.^[61] Diese Ergebnisse bekräftigen die Annahmen von TEXTOR et al. Zusätzlich bestätigen SILVERMANN et al., dass die Anbindung nicht durch die Anzahl von Hydroxygruppen auf der Oberfläche limitiert ist, wie es beispielsweise bei dem Einsatz von Siloxanen der Fall ist.^[56] Es konnte gezeigt werden, dass phosphonathaltige Monoschichten zu einer höheren Oberflächenbeladung führen. Zudem ist die Anbindung über Phosphonate an Metalloxidoberflächen hydrolytisch stabiler als bei der Anbindung über Siloxane. Für die Funktionalisierung von Implantatoberflächen ist allerdings die Beständigkeit unter physiologischen Bedingungen eine Grundvoraussetzung.

Der Einsatz von phosphonathaltigen Monoschichten konnte bereits für die Modifizierung von Implantatoberflächen in Hinblick auf bestimmte Fragestellungen erfolgreich genutzt werden. ADDEN et al. immobilisierten Monolayer aus endfunktionalisierten Alkylphosphonsäuren über einen einfachen Tauchprozess auf Titan, um bioaktive Proteine wie das BMP (Bone Morphogenetic Protein) zur Verbesserung des Knochenwachstums anzubinden.^[62] Mit der Anforderung, Zellwachstum auf Titanoberflächen zu fördern, setzten SCHWARTZ und seine Mitarbeiter phosphonathaltige, mit Peptiden modifizierte Filme ein. Diese sind im Vergleich zu Silanen hydrolysestabil.^[63, 64] Zusätzlich erfordert eine Anbindung über Silanchemie eine Aktivierung der Substratoberfläche. Bei den Arbeiten von SEVIELLE et al. wurde die Oberfläche beispielsweise mittels Plasma aktiviert, um schließlich Oligopeptide über Silanisierung mit 3-Chloropropyltriethoxysilan (CPTES) auf Titan zu immobilisieren.^[65]

Der Einsatz oberflächenaktiver Gruppen konnte auch für den Einbau in Polymersysteme genutzt werden. ADDEN et al. entwickelten Copolymere bestehend aus Vinylbenzylphosphonatester (VBP) und einem Linker aus N-Acryloxysuccinimid (NASI), um das knochenfördernde BMP einzuführen.^[66] Die Anbindung an die Titan(oxid)schicht konnte über das VBP in Form von Polymerfilmen auf Titan aufgebracht werden. Zwischen dem

Anteil an Phosphonatgruppen im Copolymer und der Schichtdicke der immobilisierten Filme wurde ein Zusammenhang beobachtet, der eine Anbindung über die oberflächenaktiven Phosphonatgruppen des VBP nahe legt. Auch ZOULALIAN et al. verwendeten Polyalkylphosphonate, um polyethylenglykolhaltige Terpolymere auf Titan(oxid) aufzubringen.^[67]

Neben den Phosphonaten gibt es weitere interessante Ansätze, über funktionelle Gruppen an Metalloxidoberflächen zubinden. MESSERSMITH und seine Mitarbeiter verfolgten das Prinzip die Derivate von 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) zur Anbindung zu nutzen.^[68] Diese basieren auf den Eigenschaften der Proteine der essbaren Muschel *Mytilus Edulis*, die sowohl an organische als auch anorganische Oberflächen haftet. Die Catechol-Seitenketten im DOPA als Bestandteile von Aminosäuren werden zur Anbindung genutzt. Dabei kommt es zwischen den Catechol-Seitenketten und der Metalloxidoberfläche zu einer chemischen Wechselwirkung. Der Anbindungsmechanismus ist noch wenig erforscht, Untersuchungen haben aber gezeigt, dass die DOPA-Gruppen einen entscheidenden Einfluss auf die Anhaftung haben. Bei der Modifizierung von Titan(oxid) deutet die Bindung zwischen der Oxidschicht und der Catecholgruppe auf die Ausbildung eines Charge-Transferkomplexes hin.^[69] Untersuchungen zu der Bindungsstärke mittels Rasterkraftmikroskopie (AFM) beschreiben eine starke, aber reversible Wechselwirkung mit der Titan(oxid)oberfläche. Zugleich wird eine Abnahme der Anhaftung unter alkalischen Bedingungen beobachtet, die mit der Anbindung über die oxidierten Chinongruppen begründet wird.^[70]

Die Verwendung von Aminen als funktionelle Gruppen zur Anbindung an Oberflächen scheint ebenfalls interessant zu sein. IONOV et al. verwendeten ein Copolymer aus Polyethylenglykol (PEG) und 2-Aminoethylmethacrylathydrochlorid (AEMA), um an Siliziumoxid anzubinden.^[37] Durch vorherige Reinigung der Oberfläche mit Piranhalösung¹ wurde diese aktiviert und das Copolymer als dünne Schicht angebunden. Über die Messung des Zetapotentials konnte eine Reduktion der negativen Ladung der Substratoberfläche nach der Adsorption des Copolymers beobachtet werden. Diese wurde mit zunehmendem Anteil an AEMA verstärkt. Die Art der Anbindung kann als elektrostatische Wechselwirkung der positiv geladenen Aminogruppen mit der negativen Oberfläche beschrieben werden. Bei einem Copolymer aus Poly-*l*-Lysin (PLL) und PEG wurde ebenfalls die Anbindung an Titan(oxid) über positiv geladene Gruppen mittels XPS Untersuchungen nachgewiesen.^[71] Die Ausbildung eines Monolayers mit der Orientierung der PLL-Einheiten in Richtung der

¹ besteht aus 30%iger Wasserstoffperoxidlösung und konzentrierter Schwefelsäure im Verhältnis 1:3.

Titan(oxid)oberfläche wurde beobachtet.^[71, 72] Allerdings ist die Anbindung über primäre Amingruppen in Hinblick auf die Stabilität und den Bindungsmechanismus noch wenig erforscht. Die wenigen Ansätze weisen eher auf eine Anbindung über elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den positiv geladenen Aminogruppen und der negativ geladenen Metalloxidoberfläche hin. Lediglich Untersuchungen von Aminen auf Metalloxidoberflächen liefern einen ersten Hinweis, dass das Adsorptionsverhalten der Amingruppen abhängig vom pH-Wert ist. Bei γ -Aminopropyltriethoxysilan (γ -APS), aufgebracht auf polierten Eisenoxidoberflächen, bewirkte eine Erhöhung des pH-Werts auf 10,4 in Lösung eine Veränderung der Konformation.^[73] So fand neben der bevorzugten Anbindung über die Silangruppen im γ -APS auch eine Anbindung über die protonierten Aminogruppen statt. Ein ähnliches Adsorptionsverhalten konnte auch bei der Adsorption von Aminosäuren auf Titan(oxid) beobachtet werden. Mittels XPS Untersuchungen wurde im Bereich zwischen pH 2 bis 5 eine Anbindung über die Carboxylgruppen festgestellt, die ab pH-Wert größer 6 in einer Anbindung über Aminogruppen dominierte.^[74] Es wurde ein Zusammenhang zwischen den Hydroxygruppen auf Titan und dem Adsorptionsverhalten postuliert. Im sauren Bereich fungieren Hydroxygruppen am Titanion als Reaktionspartner für die deprotonierten Carboxylgruppen der Aminosäure. Erst bei pH größer 6 liegen die Hydroxygruppen nicht mehr vor, so dass eine Anbindung über die Aminogruppen bevorzugt stattfindet.

Amine werden auch verstärkt zur Modifizierung von Substratoberflächen eingesetzt. PULEO et al. nutzten diese als funktionelle Gruppen für die Anbindung von knochenfördernden Proteinen wie BMP-4 auf Titan, um eine Osteoinduktion zu stimulieren.^[75] Über eine Plasmapolymersation wurden Aminogruppen auf die Oberfläche gebracht. Gleichzeitig wurde beobachtet, dass plasmainitierte Polymerfilme auf Titan die Zelladhäsion verbessern.^[76]

In der Hinsicht auf die Stabilität der Bindung scheint die Nutzung von Phosphonaten als oberflächenaktive Gruppe zur Anbindung an Titan(oxid)oberflächen ein vielversprechender Ansatz zu sein. Die Verwendung von Aminen als funktionelle Gruppen ist dennoch interessant. Der Bindungsmechanismus ist zwar noch wenig erforscht, gleichzeitig stellt die Anbindung von Aminen an Titan(oxid)oberflächen einen neuen Ansatz dar. Zusätzlich weisen Amine biokompatible Eigenschaften auf, die für die Modifizierung von Implantatoberflächen von Vorteil sind.^[46, 77] Bereits ADDEN et al. nutzten die biokompatiblen Eigenschaften von Polyvinylbenzylphosphonatester zur Modifizierung von Titan(oxid)oberflächen.^[66]

Im Rahmen dieser Arbeit werden daher neben den Phosphonaten auch Amine als oberflächenaktive Gruppe eingesetzt mit der Zielsetzung, Aufschluss über das

Anbindungsverhalten sowie die Stabilität im Vergleich zu den Phosphonaten zu erhalten und gleichzeitig den Einfluss auf die Biokompatibilität zu untersuchen.

Die Anbindung über funktionelle Gruppen im Polymer an Substratoberflächen kann über die Methode des „*grafting-onto*“ realisiert werden. Diese beschreibt eine chemische Bindung durch direkten Kontakt mit der Oberfläche. Somit kann durch den Einsatz von oberflächenaktiven Gruppen im Polymerrückgrad direkt an die Titan(oxid)oberfläche angebunden werden. ADDEN et al. konnte bereits zeigen, dass die Anbindung über Phosphonsäureester als oberflächenaktive Gruppe in kovalent gebundenen, ultradünnen Polymerfilmen resultiert.^[66] Diese Methode ist im Vergleich zu der Methode des „*grafting-from*“ auf geringe Schichtdicken begrenzt. Über eine oberflächeninitiierte Polymerisation werden Schichten mit einigen hundert Nanometern Dicke gebildet. Der große Nachteil des „*grafting-from*“ liegt allerdings in der aufwendigen und recht speziellen Polymersynthese, die eine Anwendung in der Industrie bzw. die Herstellung von Produkten verhindern. Da für die medizinische Anwendung ein einfacher Syntheseweg bevorzugt wird, werden daher die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Polymere über „*grafting-onto*“ auf Titan(oxid)oberflächen angebunden.

2.2 Entwicklung antimikrobieller Oberflächen

Zur Bekämpfung von bakteriellen Infektionen werden Antibiotika eingesetzt. Das zuerst entdeckte, natürlich vorkommende Antibiotikum ist das Penicillin aus dem Schimmelpilz *Penicillium notatum*. Der Ursprung der Antibiotika beschränkt sich aber nicht nur auf Mikroorganismen wie Pilze und Bakterien, sondern auch auf Stoffe aus Lebewesen wie Pflanzen und Tieren. Die Wirkung von Antibiotika beruht allgemein auf der Freisetzung des Wirkstoffes und wird bereits als Ansatz für die Entwicklung von antimikrobiellen Oberflächen verwendet. Ist allerdings das System erschöpft, kann keine Freisetzung mehr erfolgen, wodurch die Wirkung auf kurze Zeiträume limitiert wird. Dieses Problem kann durch die Strategie der kovalenten Anbindung umgangen werden, wie es am Beispiel von Vancomycin gezeigt werden kann. Die antibakterielle Wirkung von Vancomycin aus der Wirkungsgruppe der Glykopeptid-Antibiotika gegenüber Gram-positiven Bakterien ist bekannt.^[30, 78] Untersuchungen von ANTOCI und seinen Mitarbeitern haben gezeigt, dass eine kovalente Anbindung an Titanoberflächen über einen Linker aus Aminopropylsilan die Wirksamkeit nicht beeinflusst, und eine Verhinderung des Bakterienwachstums wurde nachgewiesen.^[30-32] Die antibakterielle Aktivität von Vancomycin ist allerdings nur auf Gram-

positive Bakterien limitiert, und es zeigt somit keine Wirksamkeit gegenüber Gram-negativen Keimen.

Über die kovalente Anbindung kann zwar die Wirkdauer erhöht, eine Unzugänglichkeit der Antibiotika zu den Bakterien kann aber nicht ausgeschlossen werden.^[79] Bei der Verwendung von Antibiotika als Strategie für eine antimikrobielle Oberfläche müssen hohe Ansprüche gesetzt und unterschiedliche Parameter wie Freisetzungsdauer und -konzentration, aber auch die Zugänglichkeit berücksichtigt werden. Wegen des verbreiteten Einsatzes von Antibiotika ist die Bildung von Resistenzen durch die Bakterien ein großes Problem. Neben den Antibiotika stellen natürliche antimikrobielle Peptide einen anderen Ansatz für die Entwicklung antimikrobieller Oberflächen dar. Diese werden im Folgenden betrachtet.

2.2.1 Natürliche antimikrobielle Peptide

In der Natur wurde die Abwesenheit von Bakterien bei bestimmten Tieren und Pflanzen, sowie Pilzen und Viren beobachtet. Diese Absenz beruht auf natürlichen antimikrobiellen Peptiden, die eine breite Wirksamkeit besitzen.^[80] Dabei scheint der Wirkmechanismus anders als bei den Antibiotika weniger anfällig gegenüber der Bildung von Resistenzen zu sein. Die antimikrobiellen Peptide (AMP) bestehen aus mehreren Aminosäuresequenzen und besitzen α -Helix und β -Faltblatt als sekundäre Struktur. Trotz der Vielfältigkeit bezüglich ihrer Kettenlänge und Aminosäuresequenz gibt es Gemeinsamkeiten in strukturellen Merkmalen wie die kationische Ladung, hervorgerufen durch Lysin- und Arginin-Einheiten, und der hydrophobe Bestandteil. Sie zeichnen sich durch ihre amphiphile Struktur aus. Die Einzigartigkeit der antimikrobiellen Peptide liegt in der Fähigkeit, zwischen den eukaryontischen Körperzellen und den prokaryontischen Zellen der Bakterien zu unterscheiden. Ein möglicher Wirkmechanismus der antimikrobiellen Peptide ist in Abbildung 2.2 dargestellt. Die selektive Wirkung wird anhand des unterschiedlichen Aufbaus der Membrane beschrieben. Die äußere Bakterienzellmembran besteht aus anionischen Phospholipiden, die eine starke elektrostatische Wechselwirkung mit den kationischen Gruppen der AMP zulassen. Zugleich wird aufgrund des hohen hydrophoben Anteils eine Penetration in die Bakterienzellwand ermöglicht. Bei den Körperzellen hingegen besteht die Außenwand hauptsächlich aus zwitterionischen Phospholipiden mit Cholesterol-Einheiten. Es befinden sich nur wenige anionische Gruppen im Inneren der Zellwand, so dass nur schwache hydrophobe Interaktionen zwischen den AMP und den Körperzellen stattfinden.

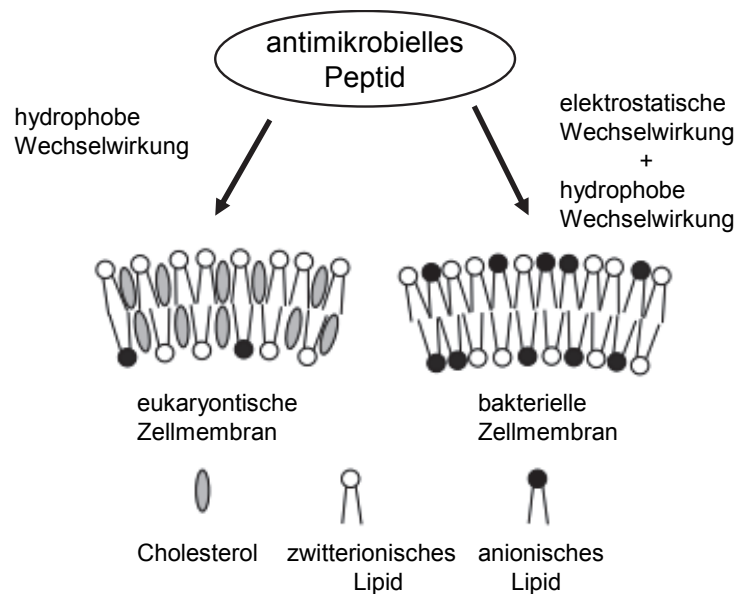


Abbildung 2.2: Darstellung des Aufbaus der eukaryontischen Zellmembran überwiegend aus zwitterionischen Lipiden und Cholesterol sowie der Bakterienmembran mit anionischen Lipiden, die eine starke Wechselwirkung mit den antimikrobiellen Peptiden eingehen.^[80]

Die Wirkung bei AMP wie Magainin und Tachyplesin zeigt sich sowohl gegenüber Gram-positiven als auch Gram-negativen Bakterien.^[81] Magainin wird aus der Haut eines afrikanischen Frosches isoliert, das Tachyplesin aus der Zelle des Pfeilschwanzkrebses.^[80] Die Aktivität gegenüber beiden Bakterienstämmen wird anhand einer Depolarisation der inneren Membran diskutiert. Die Bakterien beider Gruppen besitzen zwar jeweils eine innere Membran, die das Cytoplasma schützt. Allerdings unterscheiden sie sich im Aufbau der äußeren Zellmembran (siehe Abbildung 2.3).

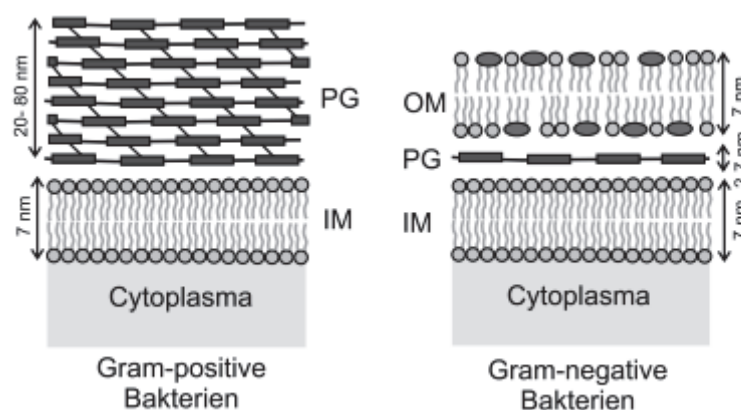


Abbildung 2.3: Schematischer Aufbau der Gram-positiven Bakterien (links) mit mehreren Schichten aus Peptidoglykan (PG) und der Gram-negativen Bakterien (rechts) mit einer dünnen PG und zusätzlichen äußeren Zellmembran (OM).^[82]

Die äußere Zellwand der Gram-positiven Keime besteht aus mehreren 20 bis 80 nm dicken Schichten Peptidoglykan (PG). Bei den Gram-negativen Keimen existiert nur eine dünne Peptidoglykanschicht von 2 bis 7 nm, dafür aber eine zweite äußere Zellmembran (OM).^[83]

Die Wirkungsweise gegenüber Gram-negativen Bakterien kann nicht allein auf die Depolarisation der inneren Membran beschränkt werden. Es wird zusätzlich eine Permeabilisierung der Außenwand postuliert. In der Literatur werden weitere Wirkmechanismen beschrieben, die in Abbildung 2.4 dargestellt sind.

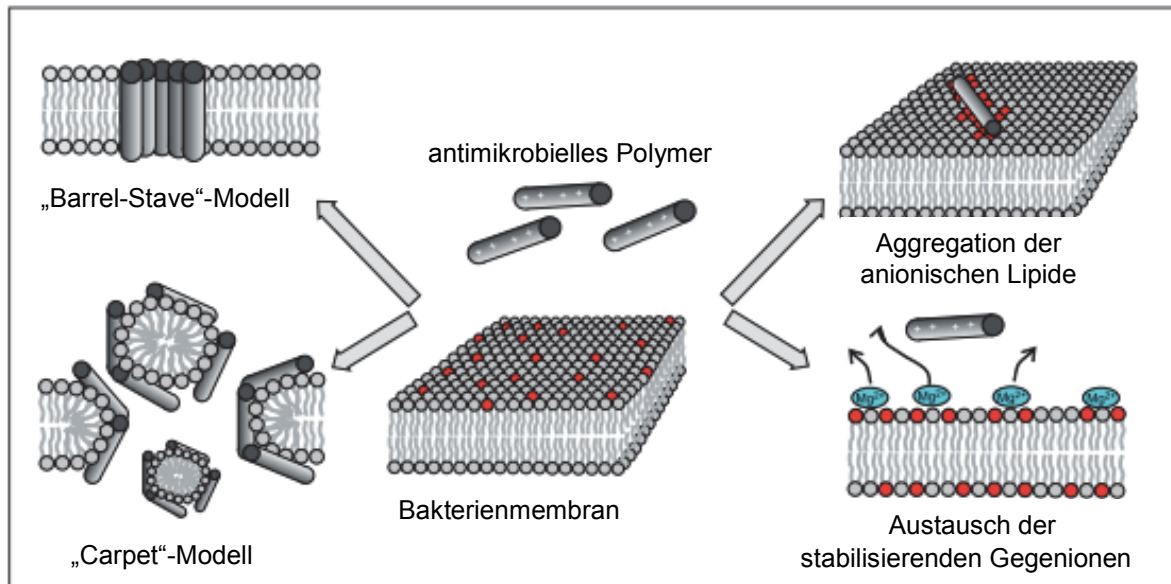


Abbildung 2.4: Übersicht der verschiedenen Wirkmechanismen der antimikrobiellen Peptide für die Zerstörung der Bakterienmembran.^[82]

Ein Mechanismus beschreibt, dass die Peptide zunächst mit der äußeren Bakterienmembran über einen hydrophoben Effekt wechselwirken und dabei eine Konformationsänderung eingehen. In Form eines Monomers oder auch als Oligomer penetrieren sie schließlich in die innere Membran. Erfolgt ein Bruch durch Ausbildung von Zylindern innerhalb der Lipidschicht durch die Peptide, wird es als „Barrel-Stave“-Modell bezeichnet. Bei dem „Carpet“-Modell hingegen bewirkt die Bildung von Mizellen die Zerstörung der Bakterienzelle. Beide Modelle werden als mögliche Wirkmechanismen diskutiert und für verschiedene antimikrobielle Peptide abhängig von ihrer Struktur in der weiterführenden Literatur näher erläutert.^[84]

Ein weiterer Mechanismus wird über die Aggregation der anionischen Lipide beschrieben. Die Anlagerung der antimikrobiellen Peptide auf der äußeren Zellmembran bewirkt eine Reorganisation, indem eine Grenzfläche zwischen den einzelnen Lipidkomponenten gebildet wird. Die Trennung einzelner Lipide hat einen Defekt der Membran zur Folge, dem die Bakterien sich innerhalb der kurzen Zeit nicht anpassen können. Dabei kann es zu einer Zerstörung der Bakterien kommen.^[85] Ein anderer Ansatz, die Wirkungsweise über die Ladungsdichte zu beschreiben, ist der Ionenaustauschmechanismus. Abhängig vom Stoffwechselzustand der Bakterienzellen ist eine bestimmte Dichte notwendig, um die

Bakterien zu töten. Dieser Mechanismus kann für beide Bakterienarten angewandt werden, wobei bei den Gram-positiven zusätzlich elektrostatische Wechselwirkungen eine Rolle spielen. Insgesamt wird die antibakterielle Aktivität über den Austausch der Ladung erklärt. Bedingt durch die negative Ladung der Bakterienmembran adsorbieren diese auf der positiv geladenen Oberfläche und führen zu der Abnahme der Vitalität der Zellen und schließlich zum Zelltod.^[86]

2.2.2 Synthetische antimikrobielle Polymere

Um eine Wirkung wie die der antimikrobiellen Peptide zu erreichen, wurde versucht, diese mittels synthetischer Polymere nachzuahmen. Als vielversprechend erwiesen sich dabei Verbindungen quartärer Ammoniumsalze. Die antibakteriellen Eigenschaften wurden durch die Interaktion der Polymere mit der Bakterienzellmembran vermutet, die eine Zerstörung dieser bewirkt.^[87, 88] Die Wirkung wurde allerdings nur in Lösung festgestellt, so dass es fragwürdig war, ob im ungelösten Zustand durch eine Anbindung an eine Oberfläche die Wirksamkeit erhalten bleibt. Bei der Entwicklung antimikrobieller Oberflächen wurden verschiedene Ansätze verfolgt. Dabei wurde versucht, die Wirkmechanismen wie sie bei den antimikrobiellen Peptiden (AMP) beschrieben wurde, auf die Polymere an Oberflächen zu übertragen. In Abbildung 2.5 sind die verschiedenen Polymere mit antibakterieller Wirkung dargestellt.

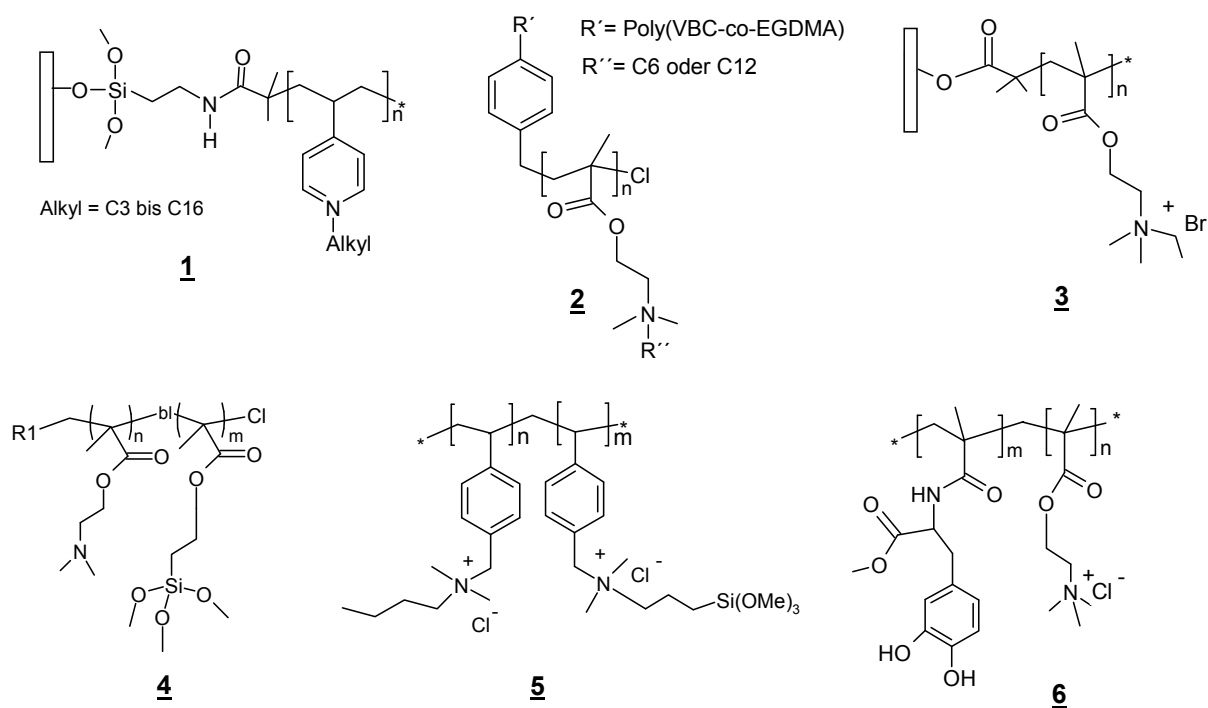


Abbildung 2.5: Übersicht von Polymeren mit antibakterieller Wirkung.

Einen ersten Mechanismus zur kontaktbakteriziden Wirkung beschrieben TILLER et al., indem sie die antibakterielle Aktivität von auf Glasoberflächen angebundenem, alkyliertem Poly(N-vinylpyridinium) **1**, kurz PVP, untersuchten.^[42] Mittels Silanisierung wurden Aminogruppen auf der Oberfläche erzeugt. Diese reagierten mit Acrylsäure zu Acrylamideinheiten, die mit Vinylpyridin polymerisiert wurden. Die Alkylierung der Vinylpyridiniumeinheiten wurde auf der Oberfläche mit verschiedenen Kettenlängen von Propyl bis hin zu Hexadecyl durchgeführt. Insgesamt wurden etwa 90 % sowohl Gram-positiver als auch Gram-negativer Bakterien getötet. Die höchste Wirksamkeit wurde für die Hexylkette am PVP beobachtet. Längere Ketten von Decyl bis Hexadecyl führten hingegen zu keinem Zelltod. Die Abhängigkeit zwischen Kettenlänge und Wirksamkeit wurde mit der Penetration der Alkylkette in die Zellmembran diskutiert. Eine zu lange Kette scheint sich nicht wesentlich von den Alkylketten der Lipide der Bakterienmembran zu unterscheiden und führt deshalb nicht zu einer starken Störung in der Zellmembran. Eine Beschichtung mit PVP als hydrophobe, polykationische Ketten konnte auch auf weitere Substratoberflächen wie PE^[39] und PP^[89] übertragen werden. Ein Zusammenhang zwischen der Kettenlänge und der antibakteriellen Aktivität wurde auch von CHENG et al. beschrieben.^[90] Bei der Modifizierung von Mikrosphären durch die Anbindung von Bürsten aus 2-Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) **2** und anschließender Quartärnisierung mit einer Dodecylkette konnte eine Effizienz von 99,9 % gezeigt werden. Im Vergleich dazu bewirkte eine Hexylkette eine geringere Wirkung von immerhin noch 90 %. Der weitaus interessantere Aspekt war jedoch die stärkere Wirksamkeit der Dodecylkette der quartärnisierten Bürsten gegenüber dem Gram-negativen Bakterium *Escherichia coli* im Vergleich zu dem Gram-positiven *Staphylococcus aureus*. Wie bereits in Kapitel 2.2.1 beschrieben wurde, unterscheiden sich beide Keime im Aufbau der äußeren Zellmembran. Somit scheint die längere Kette eine bessere Permeabilisierung der Außenwand zu bewirken.

Bei der Herstellung antimikrobieller Oberflächen beschrieben die Arbeiten von MATYJASZEWSKI et al. einen anderen Ansatz die Wirksamkeit zu erhöhen. Über eine direkte Polymerisation mittels ATRP (Atom Transfer Radical Polymerization) wird DMAEMA **3** mit einem ATRP-Initiator auf Glas und Papier^[40] oder unter Kombination mit einem Photoinitiator auf PP-Oberflächen^[41] aufgebracht und anschließend mit Ethylbromid quartärnisiert. Der Ansatz mittels ATRP bietet die Möglichkeit, ein antimikrobielles Polymer wie DMAEMA mit kontrolliertem Molekulargewicht (M_w) und geringer Polydispersität (PD) zu entwickeln. Dabei kann die Dichte der quartären Gruppen eingestellt und die Aktivität erhöht werden.^[38,41] Die Wirksamkeit über die Ladungsdichte auf der Oberfläche zu steigern konnten auch

MURATA et al. bei der Herstellung von Polymerbürsten aus DMAEMA auf Glasoberflächen zeigen. Eine Zunahme der Initiatorkonzentration bei der ATRP führte zu einer Erhöhung der Ladungsdichte und gleichzeitig konnte eine bessere Wirksamkeit gegenüber Bakterien erreicht werden.^[43] Es handelt sich um kurze Bürsten, die Schichten in einem Bereich von 4,4 bis 8 nm ausmachen. Ein Zelltod durch Penetration in die Bakterienwand ist aufgrund der kurzen Alkylkette eher unwahrscheinlich. Der direkte Zusammenhang zwischen Ladungsdichte und antibakterieller Aktivität lässt vielmehr auf einen Mechanismus durch Aggregation der anionischen Lipide schließen, wie in Abbildung 2.4 dargestellt. Für einen Mechanismus aufgrund der Ladungsdichte spricht ebenfalls die Aktivität gegenüber weiteren Mikroben wie Pilzen und Viren, die sich in der Membranstruktur doch deutlich unterscheiden. Die Hemmung des Pilzwachstums wurde durch das auf eine Glasoberfläche polymerisierte DMAEMA nachgewiesen und die Wirkung durch direkten Kontakt mit dieser diskutiert. Diese Wirkungsweise lässt wiederum eher auf die Ladungsdichte als auf eine Penetration in die Zellwand deuten^[91] und bekräftigt den Ionenaustauschmechanismus.^[86]

Die Entwicklung einer kontaktbakteriziden Oberfläche scheint ein guter Ansatz für die Modifizierung von Implantatoberflächen zu sein, um dem Risiko durch Infektion entgegen zu wirken. Für die medizinische Anwendung wird jedoch ein einfacher Syntheseweg vorausgesetzt. Die Methode mittels „*grafting-from*“ ermöglicht über die ATRP Polymerschichten mit definierten M_w , enge PD und kontrollierte Strukturen zu entwickeln. Allerdings sind synthetisch aufwändige Initiatoren notwendig. Daher eignet sich vielmehr die „*grafting-onto*“-Methode, die zwar eine definierte Einstellung von M_w und PD nicht ermöglicht, dafür aber eine Synthesestrategie unter milden Bedingungen darstellt.

In der Arbeit von HUANG et al. wurde eine Kombination aus ATRP und der Methode des „*grafting-onto*“ verwendet. Für „*grafting-onto*“ wurden mittels ATRP definierte Blöcke aus Copolymeren von DMAEMA mit Poly(trimethoxysilylpropylmethacrylat)-Einheiten **4** hergestellt.^[92] Die Einführung von Silangruppen ermöglicht, über „*grafting-onto*“ an die Glasoberfläche zu binden. Der Ansatz über „*grafting-from*“ kontrollierte Strukturen auf der Oberfläche herzustellen wurde indirekt angewandt. Über ATRP erfolgte der Einbau der Silangruppen an verschiedenen Stellen entlang der Kette, die über „*grafting-onto*“ zu einer unterschiedlichen Verteilung des Copolymers auf der Oberfläche führten. Untersuchungen mit AFM wiesen bei dem mittels Spin-Coating immobilisierten Polymerfilmen vereinzelte Stellen bzw. Flecken auf, die auf eine Anhäufung der Silangruppen hindeuten.

Ein Vergleich der beiden Methoden DMAEMA auf Oberflächen aufzubringen zeigt, dass über „*grafting-from*“^[40] insgesamt eine höhere Dichte an quartären Gruppen (QA) auf der

Oberfläche erzielt wird. Unter Betrachtung der gleichen Dichte an QA beider Anbindungsarten zeigen die Oberflächen über „grafting-onto“ jedoch eine höhere Wirksamkeit des Polymers. Es wird vermutet, dass die uneinheitliche Verteilung auf der Oberfläche zur Ausbildung von Regionen hoher Ladungsdichte führt, was zugleich eine Erhöhung der antibakteriellen Aktivität bewirkt.

BOULOSSA et al. nutzten ebenfalls Silangruppen, um antimikrobielle Polymere an Glasoberflächen anzubinden.^[93] Durch nucleophile Substitution von Poly(vinylbenzylchlorid) mit *N,N'*-dimethylaminopropyltrimethoxysilan wurden statistische Copolymere **5** hergestellt. Die Anbindung des Copolymers über die eingeführten Methoxysilaneinheiten auf Glasoberflächen resultierte in Schichten um 6 nm mit einer recht homogenen Verteilung. Eine antibakterielle Wirksamkeit konnte bereits nach 30 Minuten gegen Bakterien wie *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* und *Streptococcus mutans* nachgewiesen werden. Die Anbindung über Silanchemie ist allerdings durch die Anzahl an Hydroxygruppen auf der Oberfläche limitiert. Auf Glasoberflächen bilden Silane stabile Schichten aus. Auf Metalloxidoberflächen sind die Schichten im Vergleich zu der Anbindung über Phosphonatgruppen jedoch weniger hydrolysestabil.

Neben der Anbindung über Alkoxysilangruppen stellen Catecholeinheiten eine andere Möglichkeit dar, wie bereits eingangs bei der Anbindung an Implantatoberflächen diskutiert wurde. Über eine Layer-by-Layer Technik wurde eine antibakterielle Beschichtung auf Edelstahl auf der Basis eines Copolymers aus DOPA und dem Salz Methacrylat 2-(methacryloxy)ethyltrimethylammoniumchlorid **6** hergestellt. Das DOPA wurde aufgrund seiner starken Wechselwirkungen als erste Schicht eingesetzt, gefolgt von Polystyrolsulfonat als negative Polyelektrolytschicht.^[34, 66]

Die verschiedenen Ansätze zeigen, dass synthetische antimikrobielle Polymere für die Entwicklung von antimikrobiellen Oberflächen sehr vielversprechend sind. Insgesamt ist der Wirkmechanismus zwar nicht vollständig geklärt. Dennoch haben diese Polymere die strukturellen Merkmale wie hydrophile, kationische Gruppen, aber auch hydrophobe Einheiten gemeinsam, so dass grundsätzlich ein gleicher Wirkmechanismus wie für die antimikrobiellen Peptide angenommen werden kann. Neben den strukturellen Merkmalen scheint aber die Zusammensetzung im Polymer ebenfalls einen Einfluss auf die antibakterielle Wirksamkeit zu haben. Gleichzeitig haben Untersuchungen zur Selektivität eine Abhängigkeit von strukturellen Merkmalen im Polymer dargelegt. Eine Übersicht der Polymere ist in Abbildung 2.6 dargestellt.

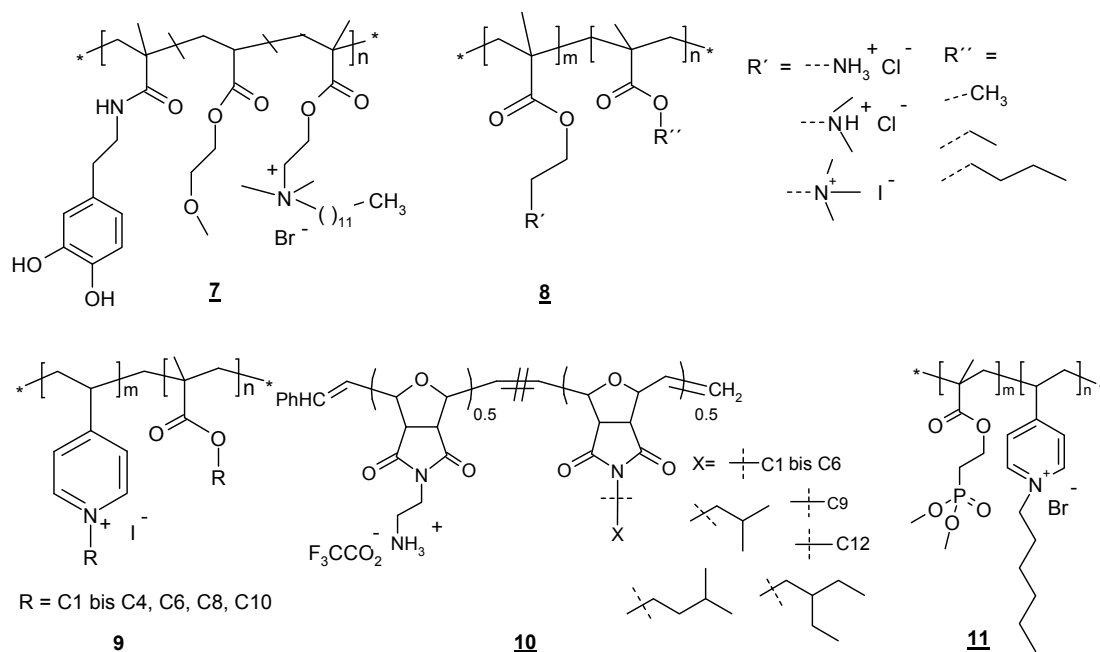


Abbildung 2.6: Übersicht von Polymeren mit selektiver antibakterieller Wirkung.

Bei dem Einsatz von Terpolymeren **7** wurde neben der antibakteriell wirksamen Gruppe DMAEMA, alkyliert mit Dodecylbromid, zusätzlich eine hydrophile Komponente aus 2-Methoxyethylacrylat (MEA) eingebaut.^[94] Zur Anbindung an die Glasoberfläche wurden die Catecholeinheiten des Derivats aus Dopamin und Methacrylamid genutzt. Die Wirksamkeit gegenüber dem Gram-negativen Keim *Escherichia coli* konnte für dieses System bestätigt werden. Es wurden verschiedene Zusammensetzungen im Terpolymer untersucht und ein interessanter Aspekt in Hinblick auf die Wirksamkeit beobachtet. Die zuvor nachgewiesene antibakterielle Aktivität des quartären DMAEMA^[90] reichte nicht allein aus. Erst mit einem gewissen Anteil an hydrophilen MEA-Gruppen im Terpolymer konnte eine effiziente Wirkung erreicht werden. Für dieses System konnte ein Einfluss der Zusammensetzung im Polymer beobachtet werden. Ein bestimmtes Verhältnis an quartären DMAEMA-Einheiten zu den MEA-Gruppen im Polymer führte erst zu der gewünschten Wirkung. Der Einbau von MEA bewirkt eine Erhöhung der Hydrophilie im Polymer. Dieser Aspekt deutet an, dass die Hydrophilie eine Einflussgröße darstellt und ein gewisser Anteil an Hydrophilie für eine gewünschte antibakterielle Wirkung erforderlich ist.

Bei den Experimenten zur Selektivität wurde diese über das Verhältnis zwischen der minimalen Konzentration zur Abtötung von Bakterien und der Konzentration bei Eintritt der Hämolyse bestimmt. Untersuchungen an Derivaten von Polymethacrylaten haben gezeigt, dass auch für eine selektive Wirkung der Polymere ein Anteil an hydrophoben Gruppen entscheidend ist.^[45] PALERMO et al. untersuchten anhand der Funktionalität von Aminen, den

Einfluss struktureller Eigenschaften auf die selektive Wirkung.^[46] Es wurden verschiedene amphiphile Copolymere mit Polymethacrylat als Grundgerüst **8** und unterschiedlichen Aminen hergestellt. Dabei wurden primäre, tertiäre und quartäre Gruppen durch Alkylierung des Amins eingeführt. Anhand der Untersuchungen auf antimikrobielle Wirkung gegenüber *Escherichia coli* und der Hämolyse konnte ein Einfluss der chemischen Struktur beobachtet werden. Die Alkylseitenkette wurde als ein wichtiges strukturelles Merkmal beschrieben. Somit scheint auch hierbei die Hydrophilie ein entscheidender Faktor zu sein. Eine Selektivität wurde verstärkt durch die reversiblen N-protonierten Amine erhalten.

SAMBHY et al. beobachteten, dass bei Polymeren aus Pyridinium und Methacrylaten **9** die Verteilung der hydrophoben und kationischen Gruppen entlang der Polymerkette ebenso eine wichtige Einflussgröße darstellt.^[44] Bei Copolymeren mit Norbornen als Grundgerüst **10** konnte mit einer bestimmten Zusammensetzung, bei der die Comonomere jeweils 50 mol% ausmachten, ein Optimum für die Hydrophobie erreicht werden. Eine Veränderung der Zusammensetzung führte zu keiner Verbesserung der Selektivität.^[95] Durch die Erhöhung der Hydrophilie kann zwar die antibakterielle Wirksamkeit erhöht werden, gleichzeitig steigt aber die Cytotoxizität gegenüber menschlichen Epithelzellen.^[96] Die verschiedenen Ansätze in Abbildung 2.6 mit teilweise unterschiedlichen chemischen Strukturen machen deutlich, dass für eine selektive Wirkung die Balance zwischen Hydrophobie und Hydrophilie entscheidend ist.

Für die Funktionalisierung von Titanimplantaten muss zusätzlich eine einfache Strategie zur Anbindung an die Metalloberfläche gewählt werden. Die Arbeiten von ZHANG et al. liefern zwar einen Ansatz für eine modifizierte Titanoberfläche mit sowohl antibakteriellem Effekt und gleichzeitig verbesserter Adhäsion von Säugerzellen.^[97] Eine Herstellung dieser Oberfläche bedarf aber einer aufwendigen Synthese. Die Verwendung der Methode von Polyelektrolytmultischichten zeigt einen weniger komplexen Prozess. Da Hyaluronsäure (HA) zellabweisend sowohl für Bakterien als auch für Osteo- und Fibroblasten ist, wurde zusätzlich ein Arginine-Glycine-Asparaginsäure Peptid (RGD Peptid) angebunden.^[98] Das RGD förderte das Zellwachstum ohne die antibakterielle Wirkung herabzusetzen und liefert einen guten Ansatz für eine bioaktive und gleichzeitig antibakterielle Beschichtung für Titanoberflächen.

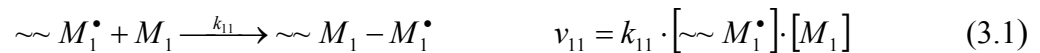
Auf der Basis eines Copolymersystems gelang PFAFFENROTH et al. ein erster Ansatz zur Herstellung von selektiv antibakteriell wirkenden Beschichtungen für Titanoberflächen.^[99] Es wurden Copolymere aus N-Hexylvinylpyridinium und Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP) **11** verschiedener Zusammensetzung synthetisiert. Zur Anbindung an das Titan wurden oberflächenaktive Phosphonatgruppen eingesetzt, die auch

bereits in der Arbeit von ADDEN et al. zu guten Resultaten führten.^[48] Das Copolymersystem zeigte eine Abhängigkeit zwischen Zusammensetzung und Wirksamkeit. Eine Erhöhung des Anteils an DMMEP verbesserte die antibakterielle Wirkung gegenüber oral pathogenen Bakterienstämmen wie *Streptococcus mutans*, setzte aber die Adhäsion von Schleimhautzellen herab. Dennoch konnte über eine definierte Zusammensetzung im Copolymer eine selektive Wirkung erreicht werden.^[99]

3. Grundlagen

3.1 Copolymerisation^[100-103]

Die Copolymerisation ist eine Reaktion zwischen zwei oder mehr Monomeren und wird gezielt eingesetzt, um die Eigenschaften der entsprechenden Homopolymere in einem Polymer zu vereinen. Dabei können verschiedene Strukturen wie statistische oder alternierende Copolymere aber auch Block- und Pfropfcopolymere erhalten werden. Um Aussagen über die Zusammensetzung im Copolymer machen zu können, muss die Copolymerisationsgleichung abgeleitet werden. Unter der Annahme, dass die Wachstumsreaktionen irreversibel sind und die Reaktivität der wachsenden Kette nur von den jeweiligen Endgruppen abhängt (Terminal-Modell), werden für zwei miteinander reagierende Monomere unter radikalischer Copolymerisation vier Reaktionen betrachtet:



Für die Reaktionsgeschwindigkeit der beiden Monomere M_1 und M_2 leiten sich folgende Beziehungen ab:

$$-\frac{d[M_1]}{dt} = k_{11} \cdot [\sim M_1^\bullet] \cdot [M_1] + k_{21} [\sim M_2^\bullet] \cdot [M_1] \quad (3.5)$$

$$-\frac{d[M_2]}{dt} = k_{12} \cdot [\sim M_1^\bullet] \cdot [M_2] + k_{22} [\sim M_2^\bullet] \cdot [M_2] \quad (3.6)$$

Durch Division der Gleichungen 3.5 und 3.6 und die vereinfachte Annahme eines stationären Zustandes für die Konzentration der aktiven Zentren

$$k_{12} \cdot [\sim M_1^\bullet] \cdot [M_2] = k_{21} [\sim M_2^\bullet] \cdot [M_1] \quad (3.7)$$

sowie der Einführung der Reaktivitätsverhältnisse bzw. Copolymerisationsparameter r_1 und r_2

$$\frac{k_{11}}{k_{12}} = r_1; \quad \frac{k_{22}}{k_{21}} = r_2 \quad (3.8)$$

kann die Copolymerisationsgleichung nach MAYO und LEWIS formuliert werden:

$$\frac{[m_1]}{[m_2]} = \frac{[M_1]}{[M_2]} \cdot \frac{r_1 \cdot [M_1] + [M_2]}{r_2 \cdot [M_2] + [M_1]} \quad (3.9)$$

Die Copolymerisationsgleichung liefert die Zusammensetzung des Copolymers für nur ein bestimmtes Comonomerenverhältnis. Unterschiedliche Verhältnisse lassen sich bei bekannten r-Parametern durch das Copolymerisationsdiagramm beschreiben (siehe Abbildung 3.1). Die r-Parameter definieren das Verhältnis der Geschwindigkeit von Homo- zu Heteropolymerisation.

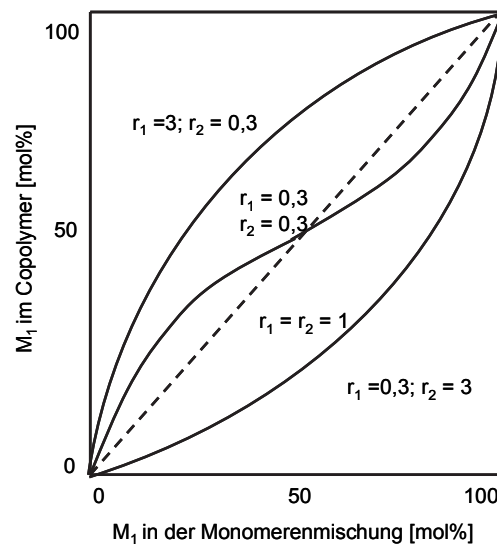


Abbildung 3.1: Copolymerisationsdiagramm mit unterschiedlichem Verlauf der r-Parameter.^[101]

Bei der Copolymerisation von zwei Monomeren werden zwei Parameter r_1 und r_2 mit unterschiedlichen Kombinationen erhalten, die Aussagen über die Copolymerzusammensetzung machen: Bei $r_1 = r_2 = 1$ entsteht ein ideal statistisches Copolymer und die Kurve liegt auf der Diagonalen des Copolymerisationsdiagramms. Ist einer der beiden r-Parameter größer 1 ($r_1 > 1$ und $r_2 < 1$ bzw. $r_1 < 1$ und $r_2 > 1$), dann wird das entsprechende Monomer an das eigene als auch fremde Kettenende bevorzugt addiert. Es resultiert eine statistische Copolymerzusammensetzung, wobei die Kurve einen bauchigen Verlauf ober- oder unterhalb der Diagonalen annimmt. Sind beide Parameter kleiner eins, wird die Anlagerung des jeweils fremden Monomers an das aktive Kettenende bevorzugt und die Copolymerisation weist eine Tendenz zum alternierenden Einbau auf. Vereinzelt kann die Bevorzugung des Homopolymerisationsschritts unter Bildung langer Sequenzen aus gleichem Monomer (Blockcopolymere) bis hin zum Polymergemisch aus reinem Homopolymer stattfinden. Dabei liegen beide r-Werte oberhalb 1.

3.1.1 Bestimmung der Copolymerisationsparameter

Die r-Parameter lassen sich experimentell aus verschiedenen Konzentrationsverhältnissen der Ausgangsmonomere bei kleinen Umsätzen ermitteln. Zur Bestimmung können verschiedene Methoden angewandt werden. Die Methode nach FINEMANN-ROSS leitet sich aus Gleichung 3.9 mit

$$F = \frac{[M_1]}{[M_2]} \quad \text{für das Monomer} \quad \text{und} \quad f = \frac{[m_1]}{[m_2]} \quad \text{für das Polymer} \quad (3.10)$$

wie folgt ab:

$$\frac{F \cdot (f - 1)}{f} = r_1 \cdot \frac{F^2}{f} - r_2 \quad (3.11)$$

Durch Auftragung von $F \cdot (f - 1)/f$ gegen F^2/f kann mittels linearer Regression aus der Steigung r_1 und aus dem Achsenabschnitt r_2 berechnet werden. Die Methode nach FINEMANN-ROSS ist allerdings nur für sehr geringe Umsätze bis zu 5 % anwendbar.

Bei der Methode nach KELEN-TÜDÖS^[104] können hingegen höherer Umsätze bis zu 50 % berücksichtigt werden. Grundlage dieser Methode ist die Linearisierung der Copolymerisationsgleichung 3.9. Durch Einführung der Hilfsvariablen H und α sowie Division durch den Term $(H + \alpha)$ ergibt sich folgende Beziehung:

$$\frac{G}{H + \alpha} = \left(r_1 + \frac{r_2}{\alpha} \right) \cdot \frac{H}{H + \alpha} - \frac{r_2}{\alpha} \quad (3.12)$$

$$\text{mit } G = \left(\frac{m_1}{m_2} - 1 \right) \cdot \frac{[M_1] \cdot m_2}{[M_2] \cdot m_1} \quad (3.13)$$

$$H = \left(\frac{[M_1]}{[M_2]} \right)^2 \cdot \frac{m_2}{m_1} \quad (3.14)$$

$$\alpha = \sqrt{(H_{\max} \cdot H_{\min})} \quad (3.15)$$

Die Auftragung von $G/(H + \alpha)$ gegen $H/(H + \alpha)$ liefert die Werte der Copolymerisationsparameter.

3.1.2 Das Q, e-Schema

Bei der radikalischen Copolymerisation spielen unterschiedliche Faktoren wie Resonanzstabilität, Polarität und sterische Effekte eine wesentliche Rolle. Das Q, e-Schema

von ALFREY and PRICE stellt eine Möglichkeit dar, semiempirisch die Reaktivität für die eingesetzten Monomere zu bestimmen und somit den Verlauf der Copolymerisation vorherzusagen. Dieses Modell ordnet jedem Reaktionspartner eine bestimmte Reaktivität Q und eine Polarität e zu, wodurch die Reaktivität eines Monomers gegenüber einem definierten Kettenradikal abgeschätzt werden kann. Die Q , e -Werte sind unabhängig vom Comonomer und erlauben somit die Copolymerisationsparameter beliebiger Monomerenpaare nach den folgenden Gleichungen theoretisch zu berechnen:

$$r_1 = \frac{Q_1}{Q_2} \exp[-e_1(e_1 - e_2)] \quad (3.16)$$

$$r_2 = \frac{Q_2}{Q_1} \exp[-e_2(e_2 - e_1)] \quad (3.17)$$

Zur Berechnung der Q - und e -Werte eines Monomers, müssen die Werte des zweiten Monomers bekannt sein. Bei radikalischer Copolymerisation wird Styrol als Bezugsmonomer mit $Q = 1,0$ und $e = -0,8$ gewählt. Das Schema erlaubt somit r -Parameter unbekannter Monomere abzuschätzen und qualitativ die Fähigkeit zur Copolymerisation zu beurteilen. Dabei können Monomere mit sehr verschiedenen Q -Werten nicht copolymerisiert werden. Bei gleichen Q -Werten und gleichen e -Werten entstehen ideal-azeotrope, bei weit verschiedenen e -Werten alternierende Copolymere.

Das Q , e -Schema berücksichtigt zwar nur Stabilisierungseffekte bzw. Reaktivität und Polarität, hingegen aber keine sterischen Wechselwirkungen. Allerdings gestattet das Schema eine gute Aussage über die r -Parameter der eingesetzten Monomerenpaare.

3.2 Oberflächenanalytik

3.2.1 Ellipsometrie^[105]

Die Ellipsometrie ist eine optische Messmethode, die zur Untersuchung von Materialien und Oberflächen genutzt wird. Dabei werden Kenngrößen wie Brechungsindex und Extinktionskoeffizient gemessen, welche mittels Schichtmodellen die Bestimmung von Schichtdicken dünner Filme bis in den Nanometerbereich ermöglichen ohne diese beim Analysieren zu zerstören. Ausgenutzt wird dabei die Reflektion an einer Metalloberfläche und die daraus resultierende Änderung des Polarisationszustandes.

Aufbau eines Ellipsometers

Die wichtigsten Bestandteile eines Ellipsometers sind die Lichtquelle, Polarisator, Analysator und eine $\lambda/4$ -Platte, deren Funktionen im Folgenden erläutert werden. Der schematische Aufbau eines modernen Ellipsometers ist in Abbildung 3.2 dargestellt. Als Lichtquelle für monochromatisches Licht wird ein Laser verwendet, dessen Strahl durch den nachstehenden Polarisator linear polarisiert wird. Vor dem Auftreffen auf die Substratoberfläche ist im Strahlengang eine $\lambda/4$ -Platte in einem Winkel von 45° zum linear polarisiertem Licht angeordnet. Die $\lambda/4$ -Platte ist ein anisotropes optisches Element, welches aus zwei Achsen besteht, die senkrecht zueinander stehen. Die beiden Komponenten liegen in Phase und werden um 45° verschoben und somit elliptisch polarisiertes Licht erzeugt. Das elliptisch polarisierte Licht wird dann an der Probe mit einer Phasenverschiebung von 0 bis 360° reflektiert und am Analysator detektiert.

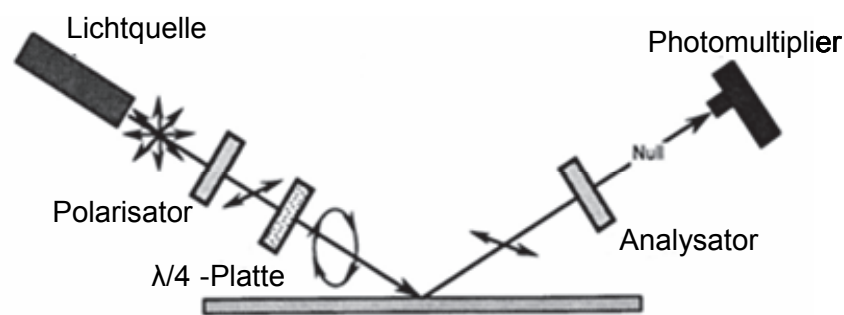


Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau eines Ellipsometers mit der Anordnung der $\lambda/4$ -Platte nach dem Polarisator.^[105]

Meist wird die Methode der Null-Ellipsometrie angewandt. Polarisator und Analysator werden gegeneinander rotiert bis die Signalintensität den Wert Null annimmt und vom Photomultiplier nicht mehr gemessen werden kann. Der Messaufbau kann durch die Anordnung der $\lambda/4$ -Platte variieren, indem diese nach der Reflektion platziert wird. Allerdings ermöglicht die oben beschriebene Anordnung eine einfachere Bestimmung der Messgrößen Δ und ψ , die im Folgenden unter Betrachtung der Grundlagen der Ellipsometrie eingeführt werden.

Grundlagen der Ellipsometrie

Das Messprinzip beruht auf der Bestimmung der Änderung des Polarisationszustandes einer elektromagnetischen Welle nach der Reflektion an der Oberfläche. Wird Licht als elektromagnetische Welle definiert, dann wird sie als transversale Welle bestehend aus einem elektrischen und magnetischen Feldvektor beschrieben, die senkrecht zueinander und zu der

Ausbreitungsrichtung stehen. Unter Betrachtung des elektrischen Feldvektors besitzt das emittierte Licht eine Schwingungsrichtung senkrecht zur Ausbreitungsrichtung, allerdings in beliebig vielen Ebenen. Das resultierende Licht ist unpolarisiert. Wird die Schwingung auf nur eine Richtung reduziert, entsteht linear polarisiertes Licht. Bei der Kombination von zwei linear polarisierten Wellen mit derselben Ausbreitungsrichtung und Wellenlänge kommt es folglich zu einer Phasenverschiebung um 90° und es resultiert zirkuliert polarisiertes Licht. Ist die Phasenverschiebung größer 90° entsteht elliptisch polarisiertes Licht.

Wechselwirkung von Licht mit der Materie

Beim Auftreffen des Lichtes auf eine Materie, kommt es zu einer Interaktion mit dieser. Das Licht kann an der Oberfläche reflektiert werden oder tritt durch sie hindurch und wird gebrochen. Diese beiden Phänomene sind an einem Einschichtensystem in der Abbildung 3.3 dargestellt.

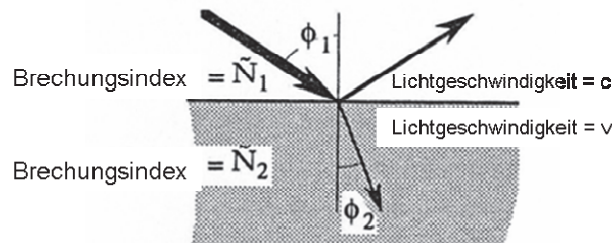


Abbildung 3.3: Darstellung der Wechselwirkung zwischen Licht und Materie bei einem Einschichtensystem.^[105]

Die Vorgänge der Reflektion und Brechung werden durch die Größen des komplexen Refraktionsindex \tilde{N} beschrieben, der sich aus einem realen und imaginären Teil zusammensetzt

$$\tilde{N} = n - j \cdot k \quad (3.18)$$

mit n als Brechungsindex und k als Extinktionskoeffizient, wobei n definiert wird als

$$n = \frac{c}{v} \quad (3.19)$$

mit c als Lichtgeschwindigkeit und v als Geschwindigkeit des Lichtes in der Materie. Aus dem Gesetz der Reflektion leitet sich das Snell'sche Gesetz ab, das bei der Lichtberechnung den Einfallswinkel gleich dem Austrittswinkel setzt:

$$\tilde{N}_1 \cdot \sin \phi_1 = \tilde{N}_2 \cdot \sin \phi_2 \quad (3.20)$$

Bei der Reflektion an einer Einfallsebene gibt es zwei zu betrachtende Komponenten (\tilde{N}_1, \tilde{N}_2), eine parallele Welle und eine senkrecht zur Einfallsebene verlaufende Welle. Die senkrecht stehende Komponente wird dabei bevorzugt reflektiert, die parallel verlaufende in das optische Medium hingegen gebrochen. Die Reflektion und Transmission an einer Schicht wird durch die Fresnel Reflektionskoeffizienten beschrieben, die das Verhältnis zwischen der Amplitude der reflektierten Welle zu der Amplitude der einfallenden Welle beschreiben. Voraussetzung dabei ist das Vorliegen nur einer Grenzfläche im betrachteten System:

$$r_{12}^p = \frac{\tilde{N}_2 \cdot \cos \phi_1 - \tilde{N}_1 \cdot \cos \phi_2}{\tilde{N}_2 \cdot \cos \phi_1 + \tilde{N}_1 \cdot \cos \phi_2} \quad \text{und} \quad r_{12}^s = \frac{\tilde{N}_1 \cdot \cos \phi_1 - \tilde{N}_2 \cdot \cos \phi_2}{\tilde{N}_1 \cdot \cos \phi_1 + \tilde{N}_2 \cdot \cos \phi_2} \quad (3.21)$$

Der Superscript p steht dabei für die parallel zur Einfallsebene verlaufende Welle und s für die senkrecht einfallende Welle.

Der Reflektionsgrad R^p bzw. R^s gibt das Verhältnis der reflektierten zur einfallenden Lichtintensität an. Eine Besonderheit stellt der Brewster-Winkel dar, bei dem das linear polarisierte Licht der parallelen Komponente vollständig transmittiert wird und der reflektierte Strahl somit vollständig senkrecht zur Einfallsebene polarisiert ist. Der Brewster-Winkel ist definiert als:

$$\tan \phi_1 = \frac{n_2}{n_1} \quad (3.22)$$

Die Betrachtung anhand eines Einschichtensystems reicht aber häufig nicht aus und muss durch ein Mehrschichtensystem erweitert werden. Die auftretenden Phänomene in einem Mehrschichtensystem sind in Abbildung 3.4 dargestellt.

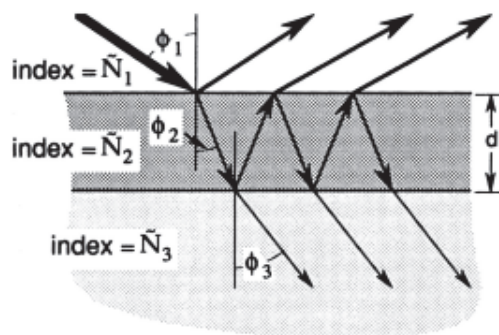


Abbildung 3.4: Wechselwirkung des Lichtes bei einem Mehrschichtensystem.^[105]

An der ersten Schicht erfolgt eine Reflektion des Lichts oder eine Transmission durch die zweite Schicht. Dabei kann der Lichtstrahl in die dritte Schicht durchdringen oder reflektiert

werden. Die Reflektion des transmittierten Strahls in das erste Medium erfolgt unter Verschiebung der p- und s-Anteile. Vor dem Austritt aus dem Medium erfahren die reflektierten Anteile wiederum eine Brechung und folglich eine Phasenverschiebung. Anhand der Änderung des Polarisationszustandes können solche Mehrschichtensysteme charakterisiert werden.

Messgrößen der Ellipsometrie

Aufbauend auf den Grundlagen der Ellipsometrie leiten sich die Messgrößen Δ und Ψ ab, die Aussagen über Brechungsindex und folglich Schichtdicke machen. Die Größe Δ beschreibt dabei die Änderung der Phasendifferenz zwischen der parallelen und senkrechten Komponente der Lichtwelle durch die Reflektion an der Oberfläche

$$\Delta = \delta_1 - \delta_2 \quad (3.23)$$

mit δ_1 als Phasendifferenz zwischen paralleler und senkrechter Komponente der einfallenden Welle und δ_2 als Phasendifferenz zwischen paralleler und senkrechter Komponente der reflektierten Welle. Die Phasendifferenz kann dabei mit der Änderung der Polarisation gleichgesetzt werden und nimmt Werte von 0 bis 360° an. Die Größe Ψ steht hingegen für den Winkel und dessen Tangens definiert das Verhältnis der Beträge der Reflektionskoeffizienten bei totaler Reflektion:

$$\tan \Psi = \frac{|R^p|}{|R^s|} \quad (3.24)$$

Der Winkel Ψ nimmt dabei Werte von 0 bis 90° an. Schließlich kann die fundamentale Gleichung der Ellipsometrie abgeleitet werden:

$$\tan \Psi \cdot e^{j\Delta} = \frac{R^p}{R^s} \quad (3.25)$$

Aufbauend auf dieser Gleichung können aus den messtechnisch ermittelten Größen Δ und Ψ Aussagen über das Verhältnis der Reflektionskoeffizienten bei totaler Reflektion getroffen werden. Durch die Anwendung eines geeigneten Schichtmodells können schließlich der Brechungsindex und der Extinktionskoeffizient berechnet und die Schichtdicke der untersuchten Probe ermittelt werden.

3.2.2 Kontaktwinkel

Bei der Charakterisierung von Oberflächen gehört die Kontaktwinkelmessung zu den gängigsten Methoden. Sie liefert Aussagen über die Benetzbarkeit und Oberflächenspannung der zu untersuchenden Substratoberfläche. Aus dem Kontaktwinkel können Rückschlüsse über die Hydrophilie respektive Hydrophobie der Oberfläche sowie Oberflächenrauigkeit und Heterogenität gemacht werden.^[106] Die Eigenschaften von Festkörperoberflächen lassen sich indirekt durch die Wechselwirkung der Oberfläche mit einer Flüssigkeit wie einem Tropfen auf einer homogenen Oberfläche charakterisieren. Die Benetzung in Form eines gewölbten Tropfens geht mit dem Zustand von minimaler Oberfläche und maximalem Volumen einher, wobei die freie Gibbsche Energie ein Minimum annimmt. Dabei muss die Oberflächenspannung betrachtet werden, die als freie Energie der Oberfläche γ bezeichnet wird und sich über den Kontaktwinkel definieren lässt.^[107]

Eine Oberfläche benetzt mit einem Wassertropfen hat drei Phasen in Koexistenz: die feste Phase des Trägermaterials, den Dampf über der Oberfläche der Flüssigkeit und die Flüssigkeit selbst (siehe Abbildung 3.5). Dieses Dreiphasensystem besitzt unterschiedliche Oberflächenspannungen γ_{lv} zwischen Flüssigkeit und Dampf, γ_{sv} zwischen Festkörper und Dampf und eine Grenzflächenspannung γ_{ls} zwischen Festkörper und Flüssigkeit.

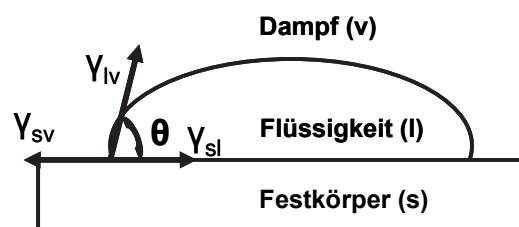


Abbildung 3.5: Schematische Darstellung eines Dreiphasensystems an einem Wassertropfen auf einer glatten Oberfläche mit den Oberflächenspannungen γ_{lv} und γ_{sv} und einer Grenzflächenspannung γ_{ls} sowie dem Kontaktwinkel θ .

An der Tripellinie, wo alle drei Phasen koexistieren, wird der Kontaktwinkel θ definiert.^[108]

Die Beziehung zwischen dem Kontaktwinkel und den Oberflächenspannungen stellt die YOUNG-Gleichung 3.26 her:

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{sv} - \gamma_{sl}}{\gamma_{lv}} \quad (3.26)$$

Zur Bestimmung des Kontaktwinkels können unterschiedliche Methoden angewandt werden. Grundsätzlich wird zwischen der statischen und dynamischen Methode unterschieden. Bei der statischen wird ein Wassertropfen durch eine Spritze auf eine glatte und homogene Substratoberfläche gesetzt. Durch Verwendung eines Mikroskops wird an dem optischen Bild

des Tropfens eine Tangente angelegt und über ein Goniometer der Kontaktwinkel direkt bestimmt. Nachteilig dabei ist die Veränderung der Tropfenkontur durch unterschiedliche Einflussgrößen wie z.B. Verunreinigungen, was die Reproduzierbarkeit erschwert. Bei der dynamischen Methode verweilt die Spritze im Tropfen, so dass sich das Tropfenvolumen vergrößert und der vordere (advancing) Winkel Θ_{adv} gemessen wird. Durch Verkleinern des Tropfenvolumens kann durch die Entnetzung der Festkörperoberfläche der hintere (receding) Winkel Θ_{rec} bestimmt werden.^[107, 109] Über die Größe des Kontaktwinkels kann Aussage über die Benetzbarkeit gemacht werden. Je kleiner der Winkel, desto höher ist die Benetzung bis es zu einer Spreitung ($\Theta = 0^\circ$) kommt.

Bei der Anwendung der YOUNGSCHEN-Gleichung wird ein Festkörper mit einer homogenen und glatten Oberfläche vorausgesetzt und berücksichtigt keine Inhomogenität oder Rauigkeit als Einflussgröße. Erst WENZEL nahm sich dieser Problemstellung an und erweiterte die Gleichung 3.26 um einen Rauigkeitsfaktor r

$$r \cdot (\gamma_{sv} - \gamma_{sl}) = \gamma_{lv} \cdot \cos \theta_w \quad (3.27)$$

mit r als Verhältnis von wahrer zu geometrischer Oberfläche.^[106] Der Winkel Θ_w wird als WENZEL-Winkel bezeichnet und stellt diesen im Gleichgewicht auf einer rauen Festkörperoberfläche dar.

Um eine genaue Bestimmung des Kontaktwinkels mit einer hohen Reproduzierbarkeit zu erhalten, muss allerdings das Phänomen der Kontaktwinkelhysterese berücksichtigt werden. Wird nicht nur ein einziger, sondern ein Bereich von Kontaktwinkeln betrachtet, kann die Differenz zwischen dem vorderen und hinteren Kontaktwinkel als Kontaktwinkelhysterese bezeichnet werden. Die in dieser Arbeit verwendete Tilting-Plate-Methode stellt solch eine Möglichkeit dar. Sie wurde von ADAM und JESSOP^[110] entwickelt und von FOWKES und HARKINS^[111] durch eine bessere Messapparatur erweitert. Die Messung mit einem Goniometer durch Anlegen einer Tangente verläuft analog zu der bereits beschriebenen, allerdings wird der Wassertropfen auf eine geneigte Substratoberfläche gesetzt und dadurch der vordere und hintere Winkel gemessen (siehe Abbildung 3.6). Die Differenz zwischen Θ_{adv} und Θ_{rec} wird als oben beschriebene Kontaktwinkelhysterese bezeichnet.



Abbildung 3.6: Messung des vorderen Θ_{adv} und des hinteren Θ_{rec} Kontaktwinkels mit der Tilting-Plate-Methode unter Neigung der Oberfläche.

Die Tilting-Plate-Methode ermöglicht somit unter Betrachtung der Hysterese eine gute Reproduzierbarkeit und genaue Werte für den Kontaktwinkel.^[106]

3.2.3 Rasterkraftmikroskopie

Die Rasterkraftmikroskopie stellt eine wichtige und weit verbreitete Methode zur Analyse von Oberflächen bzw. dünnen Filmen dar. Diese Technik, kurz AFM (Atomic Force Microscopy) genannt, wurde 1985 von BINNING et al. entwickelt und basiert auf der Messung verschiedener Kräfte zwischen einer scharfen Spitze und der zu untersuchenden Probe bei Abständen von einigen wenigen Nanometern.^[112] Durch das Abrastern der Substratoberfläche mit der Spitze, die sich an einem beweglichen Federarm, dem Cantilever befindet, kann die Stärke der Wechselwirkung mit der Oberfläche gemessen werden. Das Messprinzip ist in Abbildung 3.7 dargestellt.

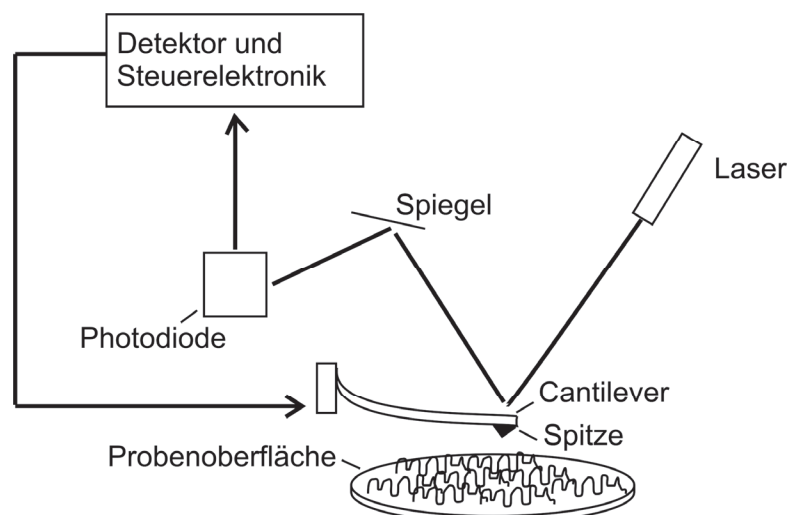


Abbildung 3.7: Aufbau des Messprinzips bei der Untersuchung einer beschichteten Substratoberfläche durch Abrastern über eine am Cantilever angebrachte Spitze.

Die Kräfte werden im AFM im Nahfeld der Spitze und Substratoberfläche gemessen. Dabei treten sowohl anziehende (attraktive) als auch abstoßende (repulsive) Kräfte abhängig von ihrer Reichweite auf. Bei geringem Abstand zwischen Spitze und Probenoberfläche überwiegen die repulsiven Kräfte. Durch die Überlappung der Elektronenwolken kommt es zu einer atomaren Abstoßung der Spitze mit den Atomen der Substratoberfläche. Die Wechselwirkung der Spitze kann idealerweise mit einem einzelnen Atom der Oberfläche erfolgen, was allerdings einen direkten Kontakt zwischen Spitze und Atom auf einer sehr kleinen Fläche voraussetzt. Häufig erfolgt jedoch die Messung der atomaren Abstoßungskräfte, die durch die umgebende Elektronendichte des Atoms beeinflusst werden,

über einen größeren Bereich. Diese Kräfte werden genutzt, um eine Topographie der Oberfläche abzubilden.^[113] Dabei wird der Abstand zwischen der Spitze und der Probe über ein Sensor-Signal kontrolliert und die Wechselwirkung zwischen beiden über die Auslenkung des Cantilevers verfolgt.

Bei größeren Abständen liegen attraktive Wechselwirkungen vor wie beispielsweise Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen Probe und Molekülen der Spitze. Bei Reichweiten von 10^{-7} bis 10^{-6} m können die Kräfte auch elektrostatischer und magnetischer Natur sein. Bei attraktiven Wechselwirkungen wird die Spitze an der zu untersuchenden Fläche entlang gezogen, was womöglich eine Deformation dieser zur Folge hat. Vor allem bei weichen Materialien kann es zur Zerstörung der Oberfläche kommen, aber auch zur Beanspruchung der Spitze. Daher müssen die Bedingungen der Untersuchung an die Beschaffenheit des Substrates angepasst werden, um bei einer Topographie der Oberfläche Artefakte zu vermeiden.

Aufbau und Betriebsweise eines Rasterkraftmikroskops

Die wichtigsten Komponenten eines Rasterkraftmikroskops sind die scharfe Spitze und der bewegliche Cantilever sowie ein Detektionssystem, eine Steuerungstechnik für die Einstellungen und ein piezoelektrischer Translator. Der große Vorteil ist, dass diese Technik im Vergleich zur Rasterelektronenmikroskopie ohne Vakuum arbeitet.

Über die Messeinstellungen kann das AFM in drei verschiedenen Modi betrieben werden.^[114]

Im **Contact Mode** befindet sich die Spitze im leichten Kontakt mit der Substratoberfläche. Durch das Abrastern der Oberfläche wird die Auslenkung des Cantilevers und folglich die Änderung der Kräfte aufgrund von Höhenunterschieden gemessen. Dieser Modus arbeitet im Bereich der repulsiven Kräfte zwischen Spitze und Probe. Durch das laterale Abrastern der Oberfläche und Auftreten von Scherkräften kann es zur Deformation der Probe kommen, was einen großen Nachteil dieser Betriebsweise darstellt.

Im **Non-Contact Mode** oszilliert die Spitze mit einer geringen Amplitude und einem konstanten Abstand kleiner als 5 nm zur Probe. Folglich kommt es nicht zum Kontakt zwischen beiden, lediglich die Wirkung von attraktiven Van-der-Waals Wechselwirkungen wird genutzt. Der Cantilever wird mit seiner Resonanzfrequenz in Schwingung versetzt und die Änderung der Kräfte über die resultierende Verschiebung der Frequenz verfolgt. Über diesen Modus werden die attraktiven Kräfte beschrieben.

Eine andere Betriebsweise wie der **Tapping Mode**TM ist eine Möglichkeit, die Oberfläche abzubilden, bei der der Cantilever mit der Spitze über seine Resonanzfrequenz durch Einsatz

eines Piezo-Oszillators die Oberfläche intervallartig berührt. Der Tapping Mode ist eine Variation des Contact Modes, die Betriebsweise entspricht eher dem Non-Contact Mode. Der Cantilever wird im Bereich seiner Resonanzfrequenz um 300 kHz in Schwingung versetzt, was in einer hohen Schwingungsamplitude (20 bis 100 nm) resultiert und somit einen Kontakt zwischen Spitze und Probe ermöglicht. Das Signal der Amplitude des schwingenden Cantilevers liefert schließlich Information über die Topographie. Der große Vorteil des Tapping Mode ist die Vermeidung von lateralen Abscherkräften sowie Zerkratzen von weichen Materialien. Aber auch das Ablösen von beweglichen Bestandteilen auf der Substratoberfläche wie Partikel oder dünne Filme wird verhindert. Der Tapping Mode wird im Rahmen dieser Arbeit für die Untersuchung von Polymerfilmen auf Titan verwendet.

Analyse von dünnen Polymerfilmen

Die AFM eignet sich als Analysemethode von Oberflächen und dünnen Filmen. Sie ermöglicht Bildauflösungen im Mikrometer- bis hin zum Nanometerbereich. Durch die Abbildung der Topographie können ultradünne Schichten sowie deren Verteilung analysiert werden. Dabei können beispielsweise Aussagen über die Anbindung von selbstbindenden Monoschichten auf Silizium^[115] und deren Beschichtungsmethode sowie die Stabilität von Polyelektrolyten auf Titan oder Glasoberflächen^[116] anhand von Rauigkeitsmessungen getroffen werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wird die AFM zur Charakterisierung von dünnen Polymerfilmen auf Titansubstraten genutzt, um Aussagen über die Homogenität der angebundenen Polymerfilme zu treffen. Bei den AFM Höhenprofilen beschichteter Substrate erfolgt die Darstellung der Höhenverteilung anhand einer Farbabstufung wie in Abbildung 3.8 a). Anhand der Auswahl vergrößerter Bildausschnitte (siehe Abbildung 3.8 b) wird ein Abschnitt bzw. Querschnitt der aufgenommen Strukturen analysiert und darüber ein Mittelwert der Höhe bestimmt (siehe Abbildung 3.8 c). Diese Bestimmung kann genutzt werden, um Aufschluss über die Größenordnung der Schichtdicke der zu untersuchenden Polymerfilme zu erhalten.

Anhand von Aufnahmen der Phase wie in Abbildung 3.9 gezeigt, können zudem Aussagen über die Materialeigenschaften der Probenoberfläche gemacht werden.

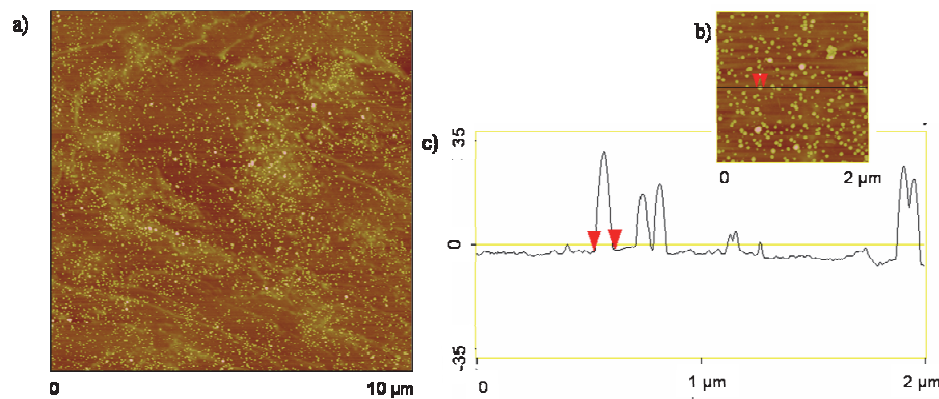


Abbildung 3.8: a) AFM Höhenprofil (Ausschnitt 10x10 μm) einer mit Polymer beschichteten Titanprobe. Vergrößerter Ausschnitt mit 2x2 μm in b) sowie Bestimmung der Höhe eines Querschnitts in c).²

Solch einem Phasenprofil liegt eine Phasenverschiebung zugrunde. Der Cantilever wird im Tapping Mode mit einer bestimmten Schwingung angeregt und erfährt beim Abtasten der Probenoberfläche durch Wechselwirkung mit dieser eine Phasenverschiebung (siehe Abbildung 3.10).

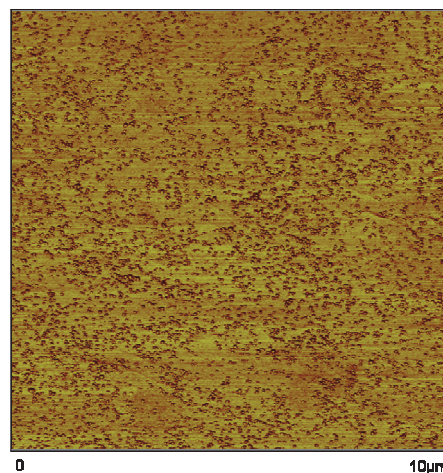


Abbildung 3.9: Ahm-Aufnahme der Phase (Ausschnitt 10x10 μm) der mit Polymer beschichteten Titanprobe aus Abbildung 3.8 a).²

Dabei wird die Amplitude von dem Ausgangswert A_0 auf einen Setpoint A_{sp} gedämpft, aber auch zugleich die Phase um einen bestimmten Winkel verschoben.^[117] Diese Verschiebung ist charakteristisch für die Probe und beschreibt somit die Materialeigenschaften. Folglich kann aber auch eine Aussage über die Verteilung der Polymerbeschichtungen über die Phasenaufnahme getroffen werden, da die Beschichtung im Vergleich zur Substratoberfläche viel weicher ist.

² Bildquelle: gemessen von Dr. Wibke Dempwolf, TU Braunschweig

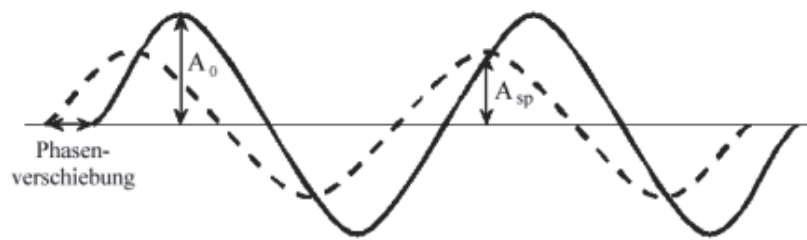


Abbildung 3.10: Phasenverschiebung der Schwingung durch den Kontakt des Cantilevers mit der Probe gekennzeichnet durch die gestrichelte Linie. Die durchgezogene Linie stellt den Amplitudenverlauf ohne Kontakt dar.^[117]

3.2.4 Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS)

Die Röntgenphotoelektronenspektroskopie kurz XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy) ist eine spektroskopische Technik, die Aussagen auf atomarer und molekularer Ebene von Substratoberflächen liefert.^[118] Sie ist auch unter dem Namen ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis) bekannt, da sie als quantitative Analyse zur Bestimmung der Oberflächenzusammensetzung genutzt wird. Diese Messmethode wurde 1960 in Schweden von SIEGBAHN entwickelt, der 1981 mit dem Nobelpreis für seine Arbeit ausgezeichnet wurde. XPS ermöglicht die Untersuchung von 2 bis 20 Atomschichten mit einer Eindringtiefe von ca. 10 nm. Sie liefert Informationen über die elementare Zusammensetzung der Oberfläche und die chemische Bindungsstärke. In der Regel wird die zu untersuchende Substratoberfläche während der Analyse nicht zerstört.

Grundlagen der Messmethode

Die Technik der XPS beruht auf der Grundlage des photoelektrischen Effektes, bei dem durch Beschuss mit Photonen, Elektronen aus der Oberfläche ausgestoßen werden.^[118] Während einer Messung wird die zu untersuchende Probe Röntgenstrahlung ausgesetzt. Die Photonen der Röntgenstrahlen wechselwirken dabei mit den Elektronen des Atoms der inneren Schale, indem sie die Energie der Photonen auf die Elektronen übertragen. Aus der Substratoberfläche austretende Photoelektronen werden im XPS detektiert.^[119] Dabei werden die Elektronen mit einer Geschwindigkeit von ungefähr 10^{-16} s aus der inneren Orbitalschale der Atome gestoßen. Während der Messung wird die kinetische Energie E_k des Photoelektrons gemessen, die sich aus der Energiedifferenz der bekannten Röntgenstrahlung $h \cdot \nu$ und der Bindungsenergie E_B der inneren Elektronen bestimmen lässt. Diese definierten Größen werden durch die Gleichung nach EINSTEIN in Beziehung gesetzt

$$E_K = h \cdot \nu - E_B \quad (3.28)$$

wobei h die Plancksche Konstante und ν die Frequenz der auftreffenden Strahlung sind. Da die Messung der Bindungsenergie eines Festkörpers unter Betrachtung der Fermi-Energie erfolgt, muss eine Korrektur der Gleichung 3.28 durch den Faktor der Arbeit als Funktion E_W des festen Zustandes vorgenommen werden. Die experimentell bestimmte Energie der Photoelektronen ist folglich gegeben durch:

$$E_K = h \cdot \nu - E_B - E_W \quad (3.29)$$

Die Bindungsenergie der Elektronen ist ein Maß für die Stärke der Wechselwirkung zwischen den Elektronen und dem Kern und ist für jedes Atom spezifisch. Folglich kann aus der experimentell bestimmten kinetischen Energie der emittierten Photoelektronen jedes auf der Oberfläche befindliche Element nachgewiesen werden, mit Ausnahme von Wasserstoff und Helium.^[119] Der Vorgang der Photoemission ist in Abbildung 3.11 schematisch dargestellt. Damit die Photoemission stattfinden kann, muss die Röntgenstrahlung bzw. die Energie der anregenden Photonen größer als die Bindungsenergie der Elektronen des Atoms sein. Schließlich wird das Photoelektron aus der inneren Schale des Atoms herausgeschleudert und hinterlässt eine Lücke (siehe Abbildung 3.11 links, Schritt 2). Diese kann auf zwei verschiedene Arten gefüllt werden, indem sie durch ein Elektron aus einer äußeren Schale besetzt wird und ein Teil der freiwerdenden Energie als Quantum $h \cdot \nu$ freigesetzt wird (siehe Abbildung 3.11 rechts, Schritt 3).

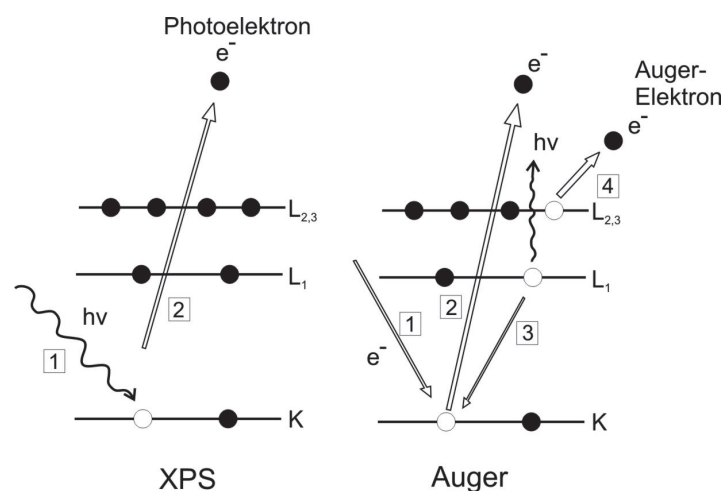


Abbildung 3.11: Schematische Darstellung der Emissionsvorgänge der Photoelektronen (links) und der Auger-Elektronen (rechts).^[119]

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Abgabe der Energie an ein Elektron aus demselben oder darunter befindlichen Schale, so dass ein sogenanntes Auger-Elektron einer bestimmten Energie emittiert wird (Abbildung 3.11 rechts, Schritt 4). Die ersten Vorgänge werden als

Röntgenfluoreszenz bezeichnet, der letzte hingegen als Auger-Emission. Bei Elementen mit einer Ordnungszahl kleiner 30 dominiert die Auger-Emission. Dabei können die Peaks der Auger-Elektronen mit denen der Photoelektronen überlappen. Die kinetische Energie der Auger-Elektronen ist charakteristisch für die Elementzusammensetzung, allerdings unabhängig von der Anregungsenergie, während die kinetische Energie der Photoelektronen von der Energie der Röntgenstrahlung abhängt.

Aufbau des Messinstruments

Die wichtigsten Bestandteile einer XPS Apparatur sind das Vakuumsystem, die Röntgenstrahlenquelle, das Linsensystem, der Elektronenanalysator und ein Elektronendetektor (siehe Abbildung 3.12).

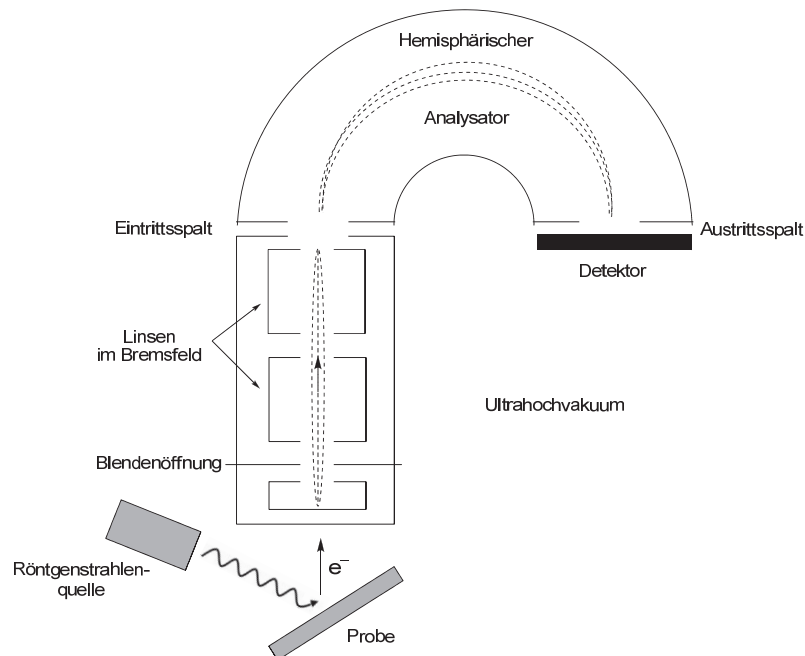


Abbildung 3.12: Schematischer Aufbau der Messapparatur eines XPS mit Röntgenquelle, Linsensystem, Elektronenanalysator und Detektor in einem Hochvakuumressort in Anlehnung an.^{[118] 3}

Das Herzstück stellt die Vakuumkammer dar, worin die Proben analysiert werden. Die Proben müssen dabei aus drei Gründen unter Vakuum gemessen werden.^[120] Der erste Grund ist der Transfer der emittierten Elektronen in Richtung des Analysators zum Detektor ohne dabei mit Gasmolekülen zu kollidieren bzw. zu wechselwirken. Das Arbeiten mit Röntgenstrahlen setzt zudem Vakuumbedingungen voraus, um in Betrieb genommen zu werden. Dabei ist ein Vakuum von 10^{-6} bis 10^{-7} torr notwendig, um diese Bedingungen zu erfüllen. Der dritte Grund ist die Voraussetzung, dass die Zusammensetzung der Substratoberfläche sich während der

³ Bildquelle: Simon Prescher (MSc.), TU Braunschweig

Untersuchung nicht ändern soll und eine Kontamination der Probe so unterbunden wird, wofür ein Vakuum von 10^{-10} torr erforderlich ist.

Die Röntgenstrahlenquelle wird so eingesetzt, dass ein Elektronenstrahl mit hoher Energie (ungefähr 10 keV) auf die Substratoberfläche aufprallt. Dabei wird generell die Röntgenfluoreszenz als Strahlung bei der Analyse verwendet. Anstelle von der durch Röntgenemission entstehenden Bremsstrahlung wird eine spezifische Fluoreszenzlinie eingesetzt, die von dem Anodenmaterial abhängig ist. Das hier verwendete Spektrometer besitzt Anoden aus Magnesium und aus Aluminium für die monochromatische Strahlung. Vorteil der Anoden ist die hohe Flussdichte der Röntgenstrahlen, die Nachteile hingegen sind die Abhängigkeit der Energieauflösung der Röntgenstrahlen von der Natur der Fluoreszenzlinie mit typischen 1-2 eV. Um die Auflösung zu verbessern, wird oftmals ein Monochromator verwendet, der aus einer Aluminiumanode und einem oder mehreren Quarzkristallen kombiniert ist. Durch die Verwendung von monochromatischer Röntgenstrahlung werden einige Einflussfaktoren ausgeschlossen und eine hohe Energieauflösung gewährleistet. Dabei besitzen die emittierten Photoelektronen die kinetische Energie von $MgK\alpha$ Photonen oder $AlK\alpha$ Photonen.^[118]

Die zu untersuchende Probe wird mit Röntgenstrahlen bestrahlt und die emittierten Elektronen über eine optische Anordnung an elektrostatischen und magnetischen Linseneinheiten gesammelt und abgebremst, damit sie in die Öffnung des Analysators eintreten können. Über die Einstellung der Sammellinsen können Elektronen bestimmter kinetischer Energie fokussiert werden. Zudem kann die Änderung des Einfallswinkels die Anzahl der Photoelektronen resultierend aus der Röntgenstrahlung erhöhen.^[120] Über einen eingeführten konzentrisch hemisphärischen Analysator (CHA) können Elektronen nur einer bestimmten Energie, sogenannte Durchgangsenergie, in den Detektor gelangen. Der CHA verwendet ein elektrisches Feld zwischen zwei hemisphärischen Oberflächen, um die Elektronen entsprechend ihrer kinetischen Energie aufzulösen. Dabei können auch einige Elektronen ohne Kollision mit der Hemisphäre den Analysator passieren. Diese Elektronen besitzen einen definierten Bereich an Energie, die abhängig ist von der Durchtrittsenergie, der Spaltgröße und des Eintrittswinkels der eintretenden Elektronen. Bei kommerziellen und modernen Analysatoren beträgt dieser Bereich 10 % der Durchtrittsenergie. Die Elektronen, die schließlich den Analysatoren passieren, werden vom Detektor gezählt.

Quantifizierung mittels XPS

Die XPS Technik ermöglicht eine quantitative Analyse von verschiedenen Substratoberflächen. Die zu untersuchenden Proben müssen fest und vakuumstabil sein. Es können aber auch flüssige oder gasförmige Proben untersucht werden. Durch die hohe Auflösung der Energie des Spektrometers kann der chemische Zustand bestimmt werden. Die Detektion eines Elements ausgehend von einer homogenen Probe liegt zwischen 0,1 und 1 atom%. Die zu untersuchende Substratfläche betrug hierbei 1 mm². Der Nachteil ist, dass die Röntgenstrahlen nicht über die Probe gescannt werden, sondern die zu analysierende Fläche durch den Bereich der detektierten Elektronen limitiert ist.^[121] Abbildung 3.13 zeigt ein Übersichtsspektrum, bei dem die Bindungsenergie über der Intensität aufgetragen wird.

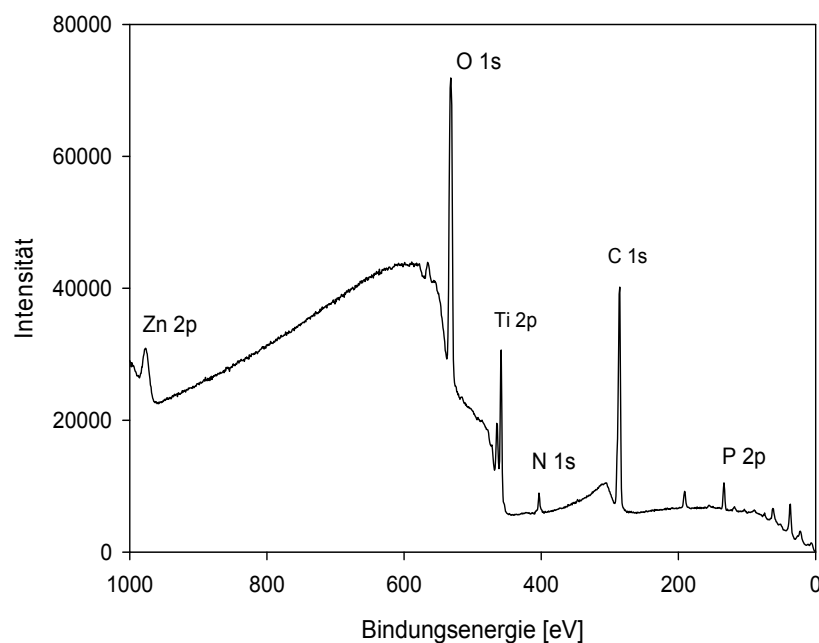


Abbildung 3.13: XPS Übersichtsspektrum einer Polymerbeschichtung mit dem Copolymer Poly(DMMEP-co-hexy/DMAEMA) auf Titan.

Aus der experimentell bestimmten Energie der Photoelektronen sowie der Arbeitsfunktion der Oberfläche und dem Korrekturterm, aufgrund der Anreicherung elektrischer Dichte auf der Oberfläche, wird die Bindungsenergie berechnet und aufgetragen. Genauere Informationen zu der chemischen Umgebung der einzelnen Elemente liefern die hochauflösenden Spektren wie z.B. das C 1s Spektrum (siehe Abbildung 3.14). Es stellt detaillierte Informationen über den genauen Zustand der Elemente anhand der Bindungsenergie dar. Die Photoelektronen werden detektiert, die aus dem Element resultieren, welches von der chemischen und physikalischen Umgebung des Atoms wie z.B. dem Oxidationszustand abhängt. Dieser Unterschied wird auch als chemische Verschiebung bezeichnet. So hängt die Ladungsdichte eines Kohlenstoffs

zum größten Teil von der Elektronegativität der umgebenden Atome ab. Liegt eine Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung vor, wird ein Peak mit einer geringen Bindungsenergie gemessen. Eine Kohlenstoff-Sauerstoff-Bindung hingegen, führt zu einer Verschiebung der Bindungsenergie aufgrund der höheren Elektronegativität des Sauerstoffatoms und es resultiert ein Signal verschoben in Richtung höherer Bindungsenergie.

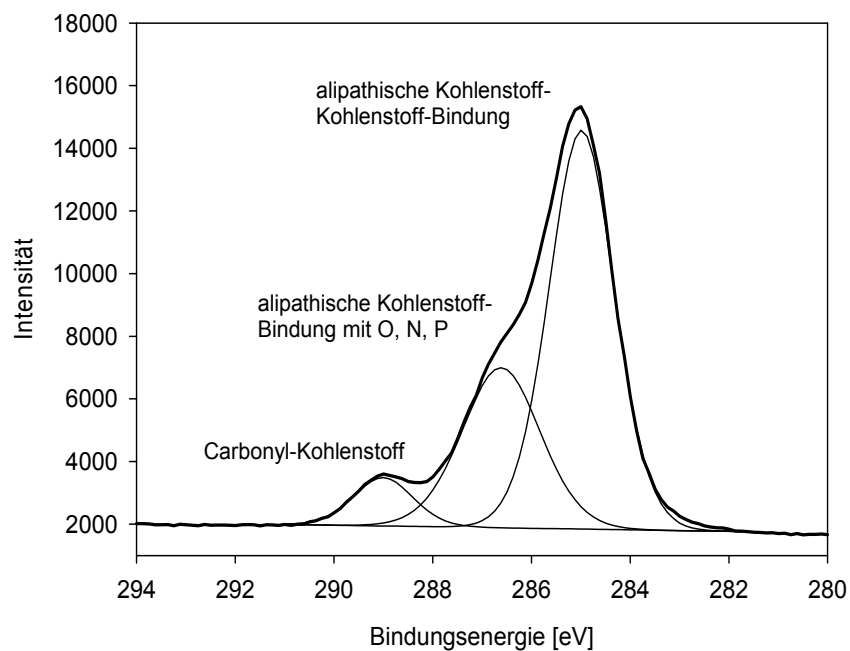


Abbildung 3.14: Hochauflöstes C 1s Spektrum einer Polymerbeschichtung des Copolymers Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA) auf Titan mit verschiedenen Bindungsenergien charakteristisch für funktionelle Gruppen gebunden am Kohlenstoffatom.

Neben dem Hauptpeak existieren beispielsweise für das alipathische Kohlenstoffatom weitere sogenannte Nebenpeaks, die durch die chemische Verschiebung entstehen, hervorgerufen durch unterschiedliche funktionelle Gruppen gebunden am Kohlenstoffatom. Daher ermöglicht XPS eine genaue Beschreibung des chemischen Zustandes der Elemente auf der Oberfläche, was diese Methode so attraktiv für die Charakterisierung macht. Der Unterschied zwischen den Bindungsenergien wird durch die Verteilung der Ladung im Atom verursacht, die sich aufgrund der Ionisation eines Atoms ändert. Wird ein Valenzelektron emittiert und ein positives Ion gebildet, erhöht sich dadurch die Bindungsenergie der restlichen Elektronen. Die negative Ionisation hingegen reduziert die Bindungsenergie.

4. Synthese und Charakterisierung der Polymere

Für die Entwicklung antimikrobieller Beschichtungen für Implantatoberflächen werden bestimmte Anforderungen gestellt. Die Polymere sollen kontaktbakterizide und gleichzeitig biokompatible Eigenschaften aufweisen und als Polymerfilm an Titanoberflächen anbinden. In der Arbeit sollen Polymere über einen einfachen Syntheseweg hergestellt und über einen einstufigen Prozess wie Spin-Coating oder Dip-Coating auf einer Titanoberfläche gebunden werden. Copolymere ermöglichen durch die Wahl der Comonomere eine genaue Einstellung der Eigenschaften. In Abbildung 4.1 ist der Aufbau eines Copolymers bestehend aus oberflächenaktiven und antimikrobiell wirkenden Gruppen schematisch dargestellt.

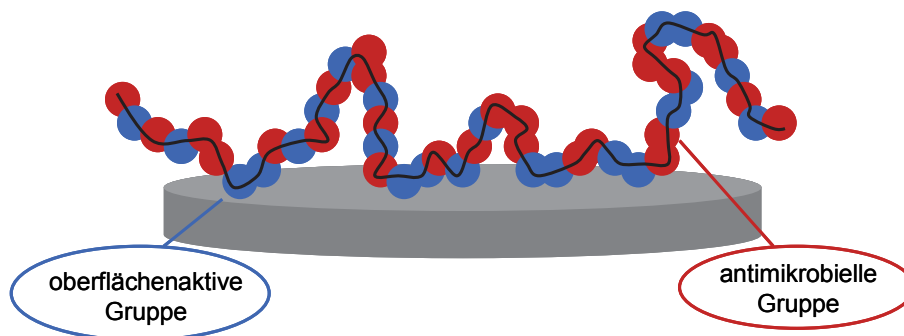


Abbildung 4.1: Schematische Darstellung eines Copolymers in Form einer Polymerkette aufgebaut aus einem Comonomer mit oberflächenaktiven Gruppen (blau) und einem Comonomer, welches antimikrobiell wirkende Gruppen trägt (rot).

Der Einbau von funktionellen Gruppen in ein Polymersystem kann über eine geeignete Auswahl der Comonomere realisiert werden. Zugleich soll bei der Kombination der oberflächenaktiven und antimikrobiell wirkenden Gruppen der Aspekt der Biokompatibilität mitberücksichtigt werden.

Im Folgenden wird die Wahl der Comonomere diskutiert und anschließend die Synthese der verschiedenen Copolymersysteme beschrieben.

4.1 Auswahl der Comonomere

Für stabile Polymerbeschichtungen zur Anbindung an Titan eignen sich Phosphonate als oberflächenaktive Gruppe im Copolymer. ADDEN et al. beschreiben die Ausbildung ultradünner Polymerfilme solcher Gruppen über eine kovalente Anbindung an Titanoberflächen.^[62, 66] Im Rahmen dieser Arbeit wurden als oberflächenaktive Gruppe Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP) und Diethylvinylphosphonat

(DEVP) gewählt. Das DMMEP wird nicht als biokompatibel eingestuft^[122], scheint aber einen Einfluss auf die antibakterielle Wirksamkeit zu haben.^[47] Es zeigte sich, dass mit zunehmendem Anteil an DMMEP im Copolymer mit Hexylvinylpyridinium als antibakterielle Gruppe die Wirksamkeit gegenüber *Streptococcus mutans* steigt. Gleichzeitig wurde eine Abnahme der Adhäsion von Gingivafibroblasten beobachtet.^[99] Das DEVP weist hingegen gute biokompatible Eigenschaften auf.^[122] In dieser Arbeit soll der Einfluss beider Phosphonate auf Wirksamkeit und Anbindung untersucht werden (siehe Kapitel 5 und 6).

Als antimikrobiell wirkende Gruppe im Copolymer werden quartäre Ammoniumverbindungen verwendet. Eine Wirksamkeit gegenüber pathogenen Keimen wie Staphylokokken ist notwendig. Die im orthopädischen Bereich am häufigsten auftretenden Gram-positiven Bakterien sind *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus epidermidis*.^[9,23,123] Bei der Anwendung auf Prothesenoberflächen bewirkt neben der antibakteriellen Aktivität eine zugleich biokompatible Beschichtung das Einwachsen des Implantats in den Knochen und fördert die Osseointegration. Die quartäre Ammoniumverbindung von 2-Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) besitzt ein breites Spektrum an Wirksamkeit sowohl gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien als auch gegenüber Pilzen und Viren.^[91] MATYJASZWESKI et al. verwendeten die Methode des „grafting-from“, um DMAEMA auf die Oberfläche aufzubringen.^[38, 40, 41] Mittels ATRP wurde das DMAEMA direkt auf der Oberfläche polymerisiert. Dieser Ansatz ist allerdings mit einem aufwändigen Syntheseweg verbunden. Um einen einfachen Syntheseweg zu verfolgen, eignet sich eher die Methode „grafting-onto“, ohne dabei die antibakterielle Wirksamkeit des Systems herabzusetzen.^[92] Im Rahmen dieser Arbeit werden verschiedene Copolymere mit DMAEMA als Comonomer hergestellt. Die für die antibakterielle Wirksamkeit notwendigen funktionellen Gruppen wie kationische Ladung und hydrophober Anteil^[80] werden über einen Quartärnisierungsschritt durch Einbau einer Alkylkette am Amin eingeführt. Untersuchungen zum Einfluss der Kettenlänge auf die antimikrobielle Wirksamkeit haben gezeigt, dass bei alkyliertem Polyvinylpyridinium mit einer Kettenlänge von 6 die höchste kontaktbakterizide Wirkung erreicht wird.^[42] Bei DMAEMA wurde eine Wirksamkeit gegenüber dem Gram-negativen Keim *Escherichia coli* sowohl mit einer Kettenlänge von 12^[90] als auch 2^[41] beobachtet. Über die Wahl der Kettenlänge wird aber auch ein Einfluss auf das Copolymer im Hinblick auf die Oberflächeneigenschaften der Polymerfilme erwartet. Bei einer kurzen Kette sollten eher hydrophile Polymerfilme gebildet werden, während mit zunehmender Alkylkettenlänge die Hydrophobie des Polymers ansteigen sollte.^[124] Dieser Aspekt soll anhand von zwei verschiedenen Kettenlängen untersucht werden. Zum einen wird die

quartäre Ammoniumverbindung 2-(Methacryloyloxy)ethyltrimethylammoniumchlorid (*methyl*DMAEMA) des Monomers mit einer Methylgruppe, d.h. einer Kettenlänge von 1 eingesetzt. Als zweites Monomer wird DMAEMA in Anlehnung an TILLER et al.^[42] mit Bromhexan umgesetzt, um eine längere Kette von 6 am Amin einzuführen. Es werden im Rahmen dieser Arbeit Copolymere kombiniert aus Phosphonatestern wie DMMEP und DEVP mit DMAEMA und *methyl*DMAEMA hergestellt. In Abbildung 4.2 sind die beschriebenen Monomere und die Umsetzung zu den verschiedenen Copolymeren dargestellt.

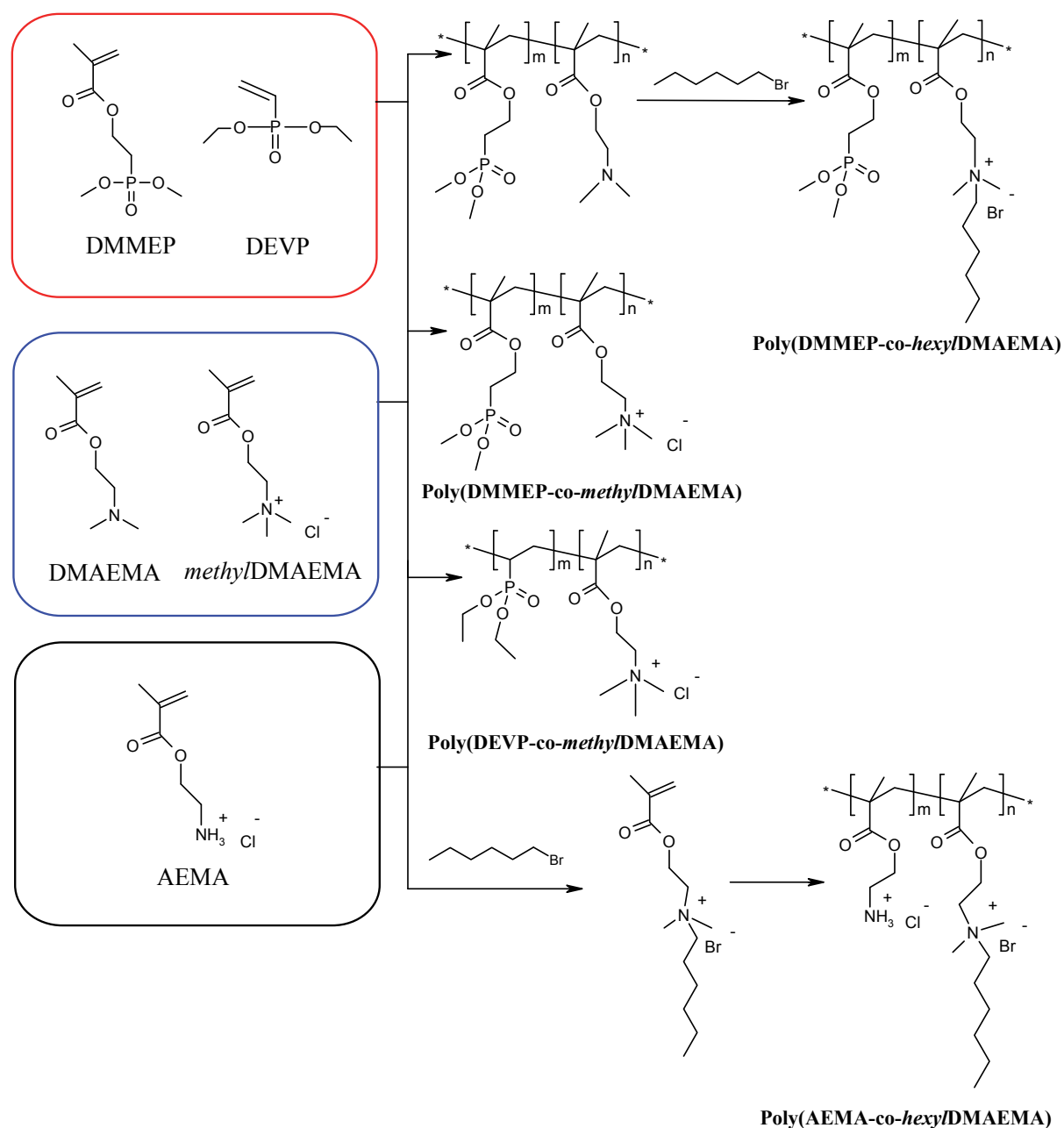


Abbildung 4.2: Übersicht der ausgewählten Monomere wie Phosphonate zur Anbindung an Titan (roter Kasten), antimikrobiell wirkende Gruppen (blauer Kasten) sowie das primäre Amin AEMA (schwarzer Kasten) als weitere Anbindungsfunktionalität, die zu verschiedenen Copolymeren umgesetzt werden.

Als zusätzliches Monomer wird ein primäres Amin, das 2-Aminoethylmethacrylat-hydrochlorid (AEMA) gewählt. In der Literatur wurde die Wirksamkeit desamins in einem Copolymer, welches über ATRP an Glasoberflächen angebunden wurde, beschrieben.^[125] Gleichzeitig scheint das AEMA vielversprechend als Anbindungsgruppe zu dienen. In Form eines Copolymers mit PEG berichteten IONOV et al. von der Anbindung auf Siliziumoxid über elektrostatische Wechselwirkung.^[37] Zugleich ist der Einsatz von AEMA aufgrund seiner biokompatiblen Eigenschaften interessant.^[77] In der Literatur ist kein Beispiel zu der Anbindung des primärenamins AEMA an Titanoberflächen bekannt, so dass Copolymere mit AEMA als Anbindungsgruppe einen neuen Ansatz darstellen. Im Rahmen dieser Arbeit soll das AEMA als oberflächenaktive Gruppe dienen und wird mit der quartären Form von DMAEMA umgesetzt (siehe Abbildung 4.2). Inwieweit die vielseitigen Eigenschaften desamins beim Einbau in ein Copolymersystem erhalten bleiben, sollen die Untersuchungen auf antibakterielle Wirksamkeit und Biokompatibilität zeigen (siehe Kapitel 6).

4.2 Freie radikalische (Co)Polymerisation

Die Monomere DEVP sowie die Salze *methyl*DMAEMA und AEMA sind kommerziell erhältlich und werden direkt eingesetzt. DMAEMA ist ebenfalls kommerziell erhältlich, muss aber vor der Umsetzung destilliert werden. Lediglich DMMEP wird synthetisiert und durch Destillation unter Vakuum aufgereinigt.

Die unterschiedlichen Copolymersysteme werden nach einem freien radikalischen Mechanismus mit Azoisobutyronitril (AIBN) als Initiator bei 60 °C copolymerisiert. Je nach Polarität wird das Lösungsmittel variiert und dementsprechend auch ein wasserlöslicher Azoinitiator 2,2-Azobis(2-methylpropionamidin)dihydrochlorid (V50) verwendet. Die Polymerisation wird unter Bildung verschiedener Zusammensetzungen im Copolymer durchgeführt, um ein breites Spektrum zu bekommen und den Einfluss auf die Wirksamkeit gegenüber pathogenen Keimen zu untersuchen. Die Charakterisierung der Copolymere erfolgt über die Bestimmung der *r*-Parameter nach der Methode von KELEN-TÜDÖS (siehe Kapitel 3.1). Die Zusammensetzung der synthetisierten Copolymere wird anhand von ¹H-NMR Untersuchungen und Elementaranalyse (EA) über das Kohlenstoff-Stickstoff Verhältnis bestimmt.

Bei der Immobilisierung der Copolymere auf Titan ist der Einfluss der oberflächenaktiven Gruppen ein wichtiger Aspekt. Inwiefern die verschiedenen Monomere die Anbindung an die Substratoberfläche beeinflussen, soll anhand der Homopolymere von DMMEP, DEVP und AEMA untersucht werden. Zudem soll ein Vergleich zwischen den Phosphonaten und dem

Amin Aufschluss über den Bindungsmechanismus an Titan geben, welches in Kapitel 5 darlegt wird. Im Folgenden wird neben der Copolymerisation, die Homopolymerisation der jeweiligen Monomere dargestellt und die Ergebnisse diskutiert.

4.2.1 Radikalische Homopolymerisation

Die Homopolymerisation von DEVP nach freiem radikalischen Mechanismus wurde bereits mit Dicumylperoxid (DCPO)^[126] oder AIBN als Initiator^[127] in Substanz sowie in Lösung^[48] durchgeführt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden jeweils beide Initiatoren eingesetzt und das DEVP in Lösung homopolymerisiert.

Für die Darstellung des Polymers aus AEMA sind unterschiedliche Ansätze bekannt wie die Herstellung mittels ATRP oder RAFT.^[128] Diese kontrolliert radikalische Polymerisationsmethoden ermöglichen definierte Molekulargewichte mit engen Verteilungen, sind aber gleichzeitig synthetisch aufwendig. Für das Homopolymer Poly(AEMA) wird ein einfacher Syntheseweg gewählt, so dass die Darstellung nach einem frei radikalischen Mechanismus erfolgt. Als Initiator wird AIBN verwendet und das AEMA in einem Gemisch aus Methanol/Wasser homopolymerisiert. Wasser wird zugesetzt, um die Löslichkeit zu steigern.

Für die Homopolymerisation von Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat kurz Poly(DMMEP) wird zunächst das Monomer **3** (DMMEP) über eine Schotten-Baumann Reaktion synthetisiert. Durch Umsetzung des Methacrylsäurechlorids **1** mit Dimethyl-2-hydroxyethylphosphonat **2** wird das DMMEP **3** gebildet (siehe Abbildung 4.3).

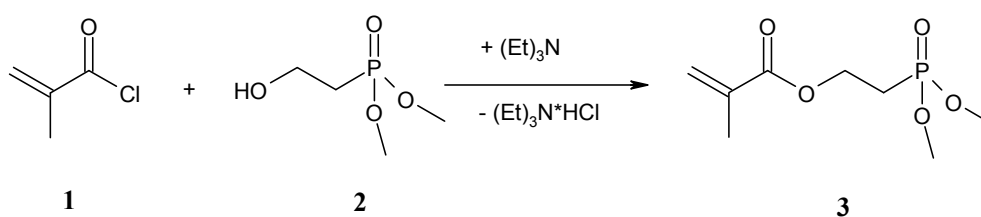


Abbildung 4.3: Darstellung von Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP) über eine Schotten-Baumann Reaktion.

Über einen nucleophilen Angriff des primären Alkohols **2** am Carbonsäurechlorid **1** entsteht der gewünschte Ester **3**. Der während der Acylierungsreaktion gebildete Chlorwasserstoff wird durch Zugabe von Triethylamin als Base abgefangen. Die Aufarbeitung erfolgt nach BRESSY-BRONDINO et al.^[129] und das Rohprodukt wird vor dem Einsatz unter Vakuum destilliert.

DMMEP wird nach einem frei radikalischen Mechanismus polymerisiert. Die Reaktion wird mit dem wasserlöslichen Initiator 2,2-Azobis(2-methylpropionamidin)dihydrochlorid (V50) in einem Gemisch aus Methanol/Wasser durchgeführt. Die Aufreinigung des Homopolymers erfolgt mittels Dialyse gegen Wasser und anschließende Isolierung durch Gefriertrocknung.

Ergebnisse der freien radikalischen Homopolymerisation

Die Polymerisation der in Abbildung 4.4 dargestellten Homopolymere konnte nach einem frei radikalischen Mechanismus umgesetzt werden.

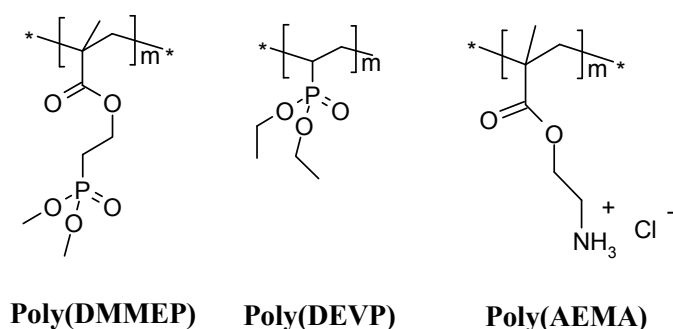


Abbildung 4.4: Synthetisierte Homopolymere Poly(DMMEP), Poly(DEVP) und Poly(AEMA) nach einem frei radikalischen Mechanismus.

Die Isolierung von Poly(DMMEP) erfolgte durch Aufarbeitung mittels Dialyse mit einer Ausbeute von 48 %. Die Reaktion von Poly(AEMA) in einem Gemisch aus Methanol/Wasser und AIBN als Initiator sowie Aufreinigung durch Ausfällen in Aceton führte zu einer hohen Ausbeute von 90 %. Die Homopolymerisation von DEVP erwies sich als schwierig, so dass verschiedene Ansätze gewählt wurden (siehe Kapitel 8). Durch eine Umsetzung mit 2 mol% Initiator und einer Reaktionszeit von 48 Stunden konnten Ausbeuten zwischen 55 % (mit DCPO) und 58 % (mit AIBN) erreicht werden. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit denen aus der Arbeit von ADDEN et al.^[48] Allerdings konnte hier das Homopolymer aufgrund der viskosen Eigenschaften nicht isoliert werden. Eine Erhöhung der Initiatorkonzentration auf 10 mol% AIBN erhöhte zwar die Ausbeute auf 70 %, resultierte aber auch in einem viskosen Material, das für einen weiteren Einsatz nicht geeignet war. Die verschiedenen Ansätze sind im experimentellen Teil in Kapitel 8 genau erläutert. Ein Anstieg der Viskosität kann bei der Reaktion durch eine geringe Kettenbeweglichkeit langer Ketten bewirkt werden. Die Verwendung von Überträgern bewirkt die Bildung von kürzeren Ketten durch Kettenübertragungsreaktionen. Dadurch wird die Beweglichkeit der Ketten erhöht und der Viskosität entgegengewirkt. Die Verwendung eines Überträgers kann zu einer Veränderung der Polymerisationskinetik führen. Es ist fraglich, ob die Polymere dann vergleichbar mit den

Copolymeren wären. Daher wurde dieser Ansatz für die Synthese von Poly(DEVP) nicht weiter verfolgt. Für einen Vergleich werden Poly(DMMEP) und Poly(AEMA) gegenüber gestellt und diskutiert (siehe Kapitel 5).

4.2.2 Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA)

Ein erster Ansatz zur freien radikalischen Copolymerisation von DMMEP mit DMAEMA als Comonomere wurde in der Arbeit von CORNELIUS^[130] verfolgt. In der Arbeit ging es um die Entwicklung von Modellsystemen und deren Einfluss auf die Biomineralisation von Siliziumdioxid. Es wurde ein Copolymer aus jeweils 50 mol% der Comonomere synthetisiert, der Fokus der Arbeit lag aber nicht in der Herstellung verschiedener Zusammensetzungen, so dass die *r*-Parameter nicht bestimmt wurden. Ziel ist die Darstellung des Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) in verschiedenen Zusammensetzungen. Unter Variation der Comonomerkonzentration sollen im ersten Syntheseschritt die Copolymere Poly(DMMEP-co-DMAEMA) hergestellt werden (siehe Abbildung 4.5 a). Die Einführung der kationischen Gruppe am Stickstoff im DMAEMA erfolgt im zweiten Schritt durch die Quartärnisierung mit Bromhexan als Alkylierungsreagenz (siehe Abbildung 4.5 b). In Anlehnung an PFAFFENROTH et al.^[99] wird die Quartärnisierung für 72 Stunden in einem Gemisch aus Nitromethan und Methanol durchgeführt.

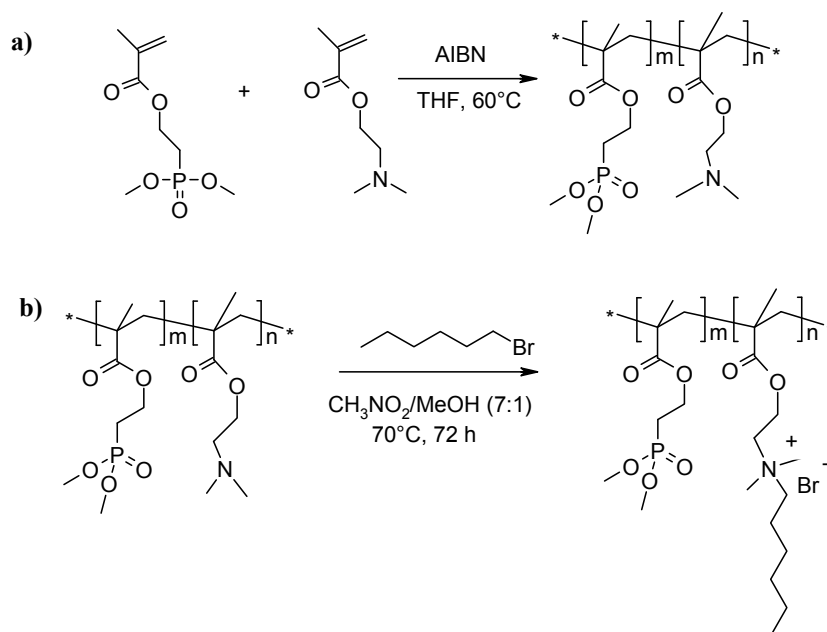


Abbildung 4.5: Darstellung des Copolymers Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA): a) Copolymerisation nach freiem radikalischen Mechanismus; b) Quartärnisierung mit Bromhexan.

Ergebnisse zu Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA)

Die Bestimmung der Zusammensetzung im Copolymer zeigt in Tabelle 4.1, dass phosphonathaltige Comonomere mit unterschiedlichem Gehalt von 75 mol% bis 25 mol% mit geringen Abweichungen zu den eingesetzten Verhältnissen in das Copolymer eingebaut wurden. Insgesamt liefern die Daten aus der Elementaranalyse (EA) eine bessere Übereinstimmung mit den theoretisch gewählten Verhältnissen. Bei den $^1\text{H-NMR}$ Untersuchungen wurde die Intensität der Methylestergruppen des DMMEP bei 3,6-4,0 ppm mit der Methylgruppen am Amin des DMAEMA bei 3,2-3,4 ppm in Relation gesetzt. Bei beiden Signalen handelt es sich um alipathische Protonen, die eine ähnliche chemische Verschiebung haben und somit geringe Abweichungen durch Überlagerung von Signalen nicht ausgeschlossen werden können.

Tabelle 4.1: Zusammensetzung und Ausbeuten der synthetisierten Copolymere Poly(DMMEP-co-DMAEMA) und Quartärnisierungsgrad der N-Alkylierung zu Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA).

Polymer	eingesetztes Verhältnis DMMEP:DMAEMA [%]	Zusammensetzung im Copolymer [%]		Ausbeute [%]	Grad der Quartärnisierung [%] nach $^1\text{H-NMR}$
		nach $^1\text{H-NMR}$	nach EA		
1a	75:25	62:38	75:25	99	40
1b	63:37	50:50	64:36	81	86
1c	62:38	55:45	70:30	91	65
1d	58:42	47:53	61:39	93	76
1e	50:50	43:57	59:41	95	75
1f	38:62	41:59	38:62	92	97
1g	25:75	28:72	37:63	77	84

Zur Bestimmung der Copolymerisationsparameter nach KELEN-TÖDÜS wurden die Daten aus beiden Analysemethoden herangezogen. Aus der Auswertung der EA resultieren folgende Werte für r_1 (DMMEP) = 1,08 und r_2 (DMAEMA) = 0,71. Tendenziell findet ein nahezu ideal statischer Einbau der Comonomere statt (siehe Anhang 10.1). Eine Auswertung anhand der Daten aus der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie ist ebenfalls möglich. Die beiden Analysemethoden liefern aber sehr unterschiedliche Ergebnisse. Aufgrund der oben erwähnten Fehlerquelle für die Auswertung mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie werden die Ergebnisse aus der EA als realistischer betrachtet.

Für die Auswertung der Alkylierungsreaktion wurden die FTIR- und ^1H -NMR-Spektroskopie herangezogen. Das FTIR-Spektrum zeigte für ein quartäres DMAEMA charakteristische Signale.^[91] Ein Vergleich in Abbildung 4.6 zwischen dem Copolymer vor und nach der Quartärnisierung deutet auf eine Zunahme der Intensität der Signale der Valenzschwingungen von CH_2 - und CH_3 -Gruppen bei 2950 und 2900 cm^{-1} sowie der Banden bei 3300 cm^{-1} , 1230 und 1050 cm^{-1} . Diese Bereiche sind charakteristisch für Kohlenstoff-Stickstoff-Bindungen.

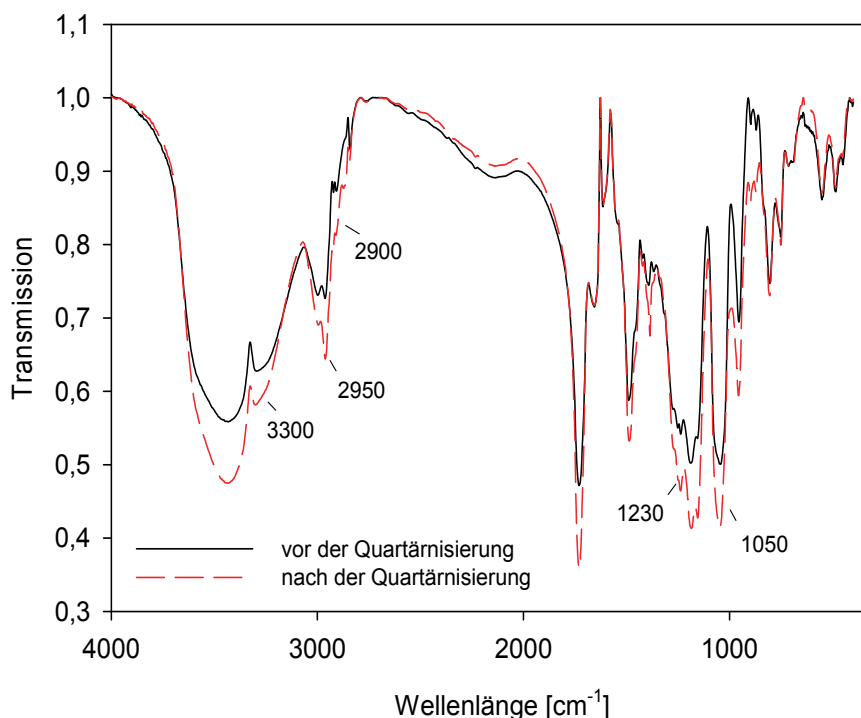


Abbildung 4.6: FTIR-Spektrum des Copolymers 1c vor und nach der Quartärnisierung als KBr-Pressling mit charakteristischen Banden bei 2950 und 2900 cm^{-1} (CH_2 - und CH_3 -Valenzschwingung), 3300 cm^{-1} (Ammonium-Ionen) sowie 1230 und 1050 cm^{-1} (C-N-Gruppe).

Ein Anstieg der Signalintensitäten lässt auf eine erfolgreiche Einführung der Alkylkette am Stickstoffatom des Amins schließen. Die FTIR-Spektroskopie wurde exemplarisch an dem Copolymer 1c durchgeführt und dient lediglich einer qualitativen Aussage, eine quantitative Bestimmung erfolgte mittels ^1H -NMR-Spektroskopie. Der Quartärnisierungsgrad wird anhand der aliphatischen Protonen der Alkylkette in Relation zu den zwei Methylgruppen am Amin bei 3,2-3,4 ppm gesetzt. Die daraus ermittelten Quartärnisierungsgrade deuten auf eine erfolgreiche Umsetzung mit Bromhexan zu Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA) hin (siehe Tabelle 4.1). Mit Ausnahme der Copolymere 1a mit 40 % und 1c mit 65 % liegen die Werte im Bereich zwischen 75 % und 97 %. Die Signale der Alkylkette besitzen eine ähnliche chemische Verschiebung wie die Protonen des Polymerrückgrads, so dass diese zum Teil überlagert sein können. Die Integration der Signale kann durchaus zu einer Unterbestimmung

der Intensität an Alkylketten führen. Bei den Zusammensetzungen 1a und 1c liegt der geringste Anteil an DMAEMA im Copolymer vor, so dass womöglich eine Alkylierung erschwert wird und geringere Alkylierungsgrade erhalten werden.

In den meisten Literaturberichten wird DMAEMA nach dem Anbinden an eine Oberfläche z.B. durch „*grafting-from*“ alkyliert. Dazu werden Ethylbromid^[40, 41] aber auch längere Ketten wie Hexylbromid oder Dodecylbromid^[90] als Alkylierungsreagenz eingesetzt. Eine vollständige Alkylierung wird über diesen Syntheseweg zwar erreicht, erfordert für eine Charakterisierung allerdings zusätzliche Analysemethoden an der Oberfläche. Es wurden beispielsweise Fluoreszenzaufnahmen^[41] aber auch XPS Untersuchungen^[90] vorgenommen, um eine erfolgreiche Alkylierung auf der Oberfläche nachzuweisen.

Eine Umsetzung des Monomers mit dem Alkylierungsreagenz vor der Polymerisation ist eine weitere Möglichkeit eine vollständige Quartärnisierung zu erreichen. Bei der Herstellung verschiedener Ammoniumsalze von DMAEMA wurde festgestellt, dass die Ausbeute des Salzes mit zunehmender Alkylkettenlänge abnahm.^[131] So scheint eine Alkylierung des Monomers mit längeren Alkylketten den Umsatz zu verringern.

Es gibt einige wenige Beispiele, die von einer Alkylierung nach der Polymerisation berichten. In den Arbeiten von BERNDT et al.^[124] wurden Copolymere aus n-Butylacrylat (BA) und DMAEMA hergestellt und anschließend mit Octylbromid oder Methyljodid umgesetzt. Eine Bestimmung mittels ¹H-NMR-Spektroskopie zeigte eine vollständige Quartärnisierung mit Methyljodid. Bei der Umsetzung mit Octylbromid wurde hingegen nur ein Quartärnisierungsgrad von 83 % erreicht. Diese Beobachtung bekräftigt die Vermutung, dass womöglich bei der Umsetzung bereits eingeführte Ketten aufgrund sterischer Effekte eine vollständige Alkylierung verhindern. Solange eine quantitative Umsetzung d.h. zu 100 % nicht vorausgesetzt wird, stellt die Einführung der Alkylkette im Copolymer eine gute Methode dar.^[132] Der Ansatz wurde in dieser Arbeit verfolgt, um auch das Molekulargewicht (M_n) der Copolymere mittels Gelpermeations-Chromatographie (GPC) bestimmen zu können. Bei kationischen Polymeren ist eine Untersuchung aufgrund von Wechselwirkungen mit dem hier verwendeten Säulenmaterial nicht möglich. Die Copolymere liefern Werte von M_n zwischen 69 000 und 252 000 g/mol mit Polydispersitäten im Bereich von 1,12 bis 1,33 (siehe Tabelle 4.2). Die Werte für M_n nehmen zwar mit dem Anteil an DMMEP ab, unter Berücksichtigung des Messfehlers sind die Molekulargewichte jedoch vergleichbar. Nur das Copolymer 1g deutet mit 252 000 g/mol im Vergleich zu den anderen Zusammensetzungen ein hohes Molekulargewicht an.

Tabelle 4.2: Daten zum Brechungsinkrement dn/dc und M_n für verschiedene Zusammensetzungen von Poly(DMMEP-co-DMAEMA) und Poly(DMMEP).

Polymer	Zusammensetzung im Copolymer [%] (EA)	dn/dc [mg/L ¹]	M_n [g/mol]
1a	75:25	--- ^a	--- ^a
1b	64:36	--- ^a	--- ^a
1c	70:30	0,146	69 000
1d	61:39	$0,149 \pm 1,3 \%$	72 800
1e	59:41	0,152	88 300
1f	38:62	0,155	--- ^b
1g	37:63	$0,158 \pm 1,3 \%$	252 000
Poly(DMMEP)		$0,129 \pm 0,5 \%$	$2,2 \times 10^6$

¹ Die Werte für dn/dc für die Copolymere 1c, e-f wurden angenähert^a die Werte konnten aufgrund geringer Substanz nicht bestimmt werden, ^b nicht messbar

Das Polymer 1f mit einem gleich hohen Anteil an DMAEMA konnte nicht gemessen werden. Es wird angenommen, dass das Copolymer auf der Säule adsorbiert wurde und nicht detektiert werden konnte. Daher kann nur vermutet werden, dass ein hoher Anteil des bevorzugt eingebauten Comonomers zu einem höheren Molekulargewicht führt. Insgesamt liegen die Werte doch deutlich unter dem Molekulargewicht des Homopolymers Poly(DMMEP) von $2,2 \times 10^6$ g/mol.

4.2.3 Poly(DMMEP-co-*methy*lDMAEMA)

In der Literatur werden einige Beispiele zur Copolymerisation von 2-(Methacryloyloxy)-ethyltrimethylammoniumchlorid (*methy*lDMAEMA) mit verschiedenen Monomeren genannt.^[34, 133-135] So wird das *methy*lDMAEMA in einer radikalischen Copolymerisation mit *N*-methacryliertem 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) als kationisches Polymer zur Herstellung von Multischichten nach der Layer-by-Layer Technik eingesetzt.^[34] In anderen Ansätzen findet eine Umsetzung mit unterschiedlichen Comonomeren wie Stearyl-methacrylat^[134] oder Methylacrylat, Butylacrylat und Butylmethacrylat^[135] nach einem frei radikalischen Mechanismus zu amphiphilen kationischen Copolymeren statt. Es sind keine Beispiele zur Polymerisation von *methy*lDMAEMA mit Phosphonateestern bekannt, so dass das Poly(DMMEP-co-*methy*lDMAEMA) einen neuen Ansatz darstellt. In Anlehnung an SUN et al.^[134] und FEFELOVA et al.^[135] wird die Synthese sowohl in Ethanol mit AIBN (Variante A)

als auch in einem Gemisch aus Wasser/Ethanol mit dem wasserlöslichen Initiator V50 (Variante B) durchgeführt. Eine Reaktion in einer reinen wässrigen Lösung ist aufgrund der fehlenden Löslichkeit des DMMEP nicht möglich. Variante B wird mittels Dialyse aufgereinigt, während bei Variante A die Aufreinigung durch Ausfällen in Diethylether erfolgt.

Ergebnisse zu Poly(DMMEP-co-methylDMAEMA)

Es konnten Copolymere unterschiedlicher Zusammensetzung aus DMMEP (M1) und *methyl*DMAEMA (M2) hergestellt werden. Dabei sind die Resultate in Bezug auf die Umsetzung der Comonomere im Copolymer unabhängig von der gewählten Variante der Reaktionsführung. In Tabelle 4.3 sind die eingesetzten Verhältnisse der beiden Varianten A und B gegenübergestellt. Die Auswertung mittels ^1H -NMR-Spektroskopie und Elementaranalyse (EA) liefert unterschiedliche Ergebnisse für die ermittelten Zusammensetzungen im Copolymer. Die Daten der EA verzeichnen einen höheren Anteil an DMMEP als eingesetzt und weichen deutlich von den theoretischen Verhältnissen ab. Eine bessere Übereinstimmung liefern die Ergebnisse aus der ^1H -NMR-Spektroskopie. Bei Betrachtung der beiden Varianten zeigen die Werte für die Zusammensetzung aber zumindest eine vergleichbare Tendenz.

Tabelle 4.3: Zusammensetzung der synthetisierten Copolymere aus den Comonomeren M1 (DMMEP) und M2 (*methyl*DMAEMA) nach Varianten A und B bestimmt mittels EA und ^1H -NMR.

Variante A				Variante B			
Polymer	eingesetztes Verhältnis M1:M2 [%]	Zusammensetzung im Copolymer [%]		Polymer	eingesetztes Verhältnis M1:M2 [%]	Zusammensetzung im Copolymer [%]	
		nach EA	nach ^1H -NMR			nach EA	nach ^1H -NMR
2a	75:25	82:18	67:33	2l	75:25	62:38	72:28
2b	65:35	80:20	60:40	2k	65:35	86:14	68:32
2g	55:45	63:37	54:46	2j	50:50	53:47	57:43
2c	25:75	46:54	36:64	2h	25:75	30:70	42:58
2d	20:80	43:57	36:64	2n	15:85	30:70	34:66

Der Unterschied zwischen den beiden Analysemethoden spiegelt sich wie erwartet in der Bestimmung der r-Parameter wider (siehe Tabelle 4.4). Die aus ^1H -NMR Untersuchungen ermittelten Werte liefern für Variante A für r_1 (DMMEP) = 0,40; r_2 (*methyl*DMAEMA) = 0,28 und für Variante B r_1 (DMMEP) = 0,53; r_2 (*methyl*DMAEMA) = 0,21 vergleichbare Werte kleiner eins. Es findet bevorzugt eine Anlagerung des jeweils fremden Monomers an

das aktive Kettenende statt. Die Copolymerisation weist somit eine Tendenz zum alternierenden Einbau auf und ist vergleichbar mit dem System Poly(DMMEP-co-DMAEMA) aus Kapitel 4.2.2.

Tabelle 4.4: Bestimmung der r-Parameter der beiden Varianten aus Daten der EA und $^1\text{H-NMR}$.

Variante A		Variante B	
EA r_1 / r_2	$^1\text{H-NMR}$ r_1 / r_2	EA r_1 / r_2	$^1\text{H-NMR}$ r_1 / r_2
1,51 / 0,21	0,40 / 0,28	1,40 / 0,36	0,53 / 0,21

Die aus der EA berechneten r-Parameter mit $r_1 = 1,51$; $r_2 = 0,21$ für Variante A und $r_1 = 1,40$; $r_2 = 0,36$ für Variante B sind für r_1 deutlich größer eins. Das DMMEP addiert sich bevorzugt an das eigene und an das fremde Kettenende. Es resultiert eine statistische Copolymerzusammensetzung. Eine Abhängigkeit zwischen dem Copolymerisationsverhalten und der gewählten Variante ist anhand der r-Parameter nicht festzustellen.

Neben der Bestimmung der r-Parameter aus den experimentellen Werten können mittels der Copolymerisationsgleichung 3.9 die erwarteten Verhältnisse im Copolymer über die r-Parameter berechnet werden. Ein Vergleich zwischen den experimentellen Konzentrationen und den aus r-Parametern ermittelten Werten soll eine Einschätzung geben, welche Analysemethode zur Bestimmung der Copolymerisationsparameter das Einbauverhalten am besten widerspiegelt. Das Copolymerisationsdiagramm in Abbildung 4.7 verdeutlicht eine gute Annäherung der Datenpunkte aus der $^1\text{H-NMR}$ Methode. Die blauen Datenpunkte aus der Bestimmung der EA liegen deutlich von der berechneten Kurve entfernt. Es ist vielmehr eine Annäherung der Datenpunkte an die schwarze Kurve zu erkennen. So kann angenommen werden, dass einige Werte aus der EA fehlerbehaftet sind und die Auswertung verfälschen. Die Auswertung mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie führt hierbei zu genaueren Resultaten, die als realistischer betrachtet werden.

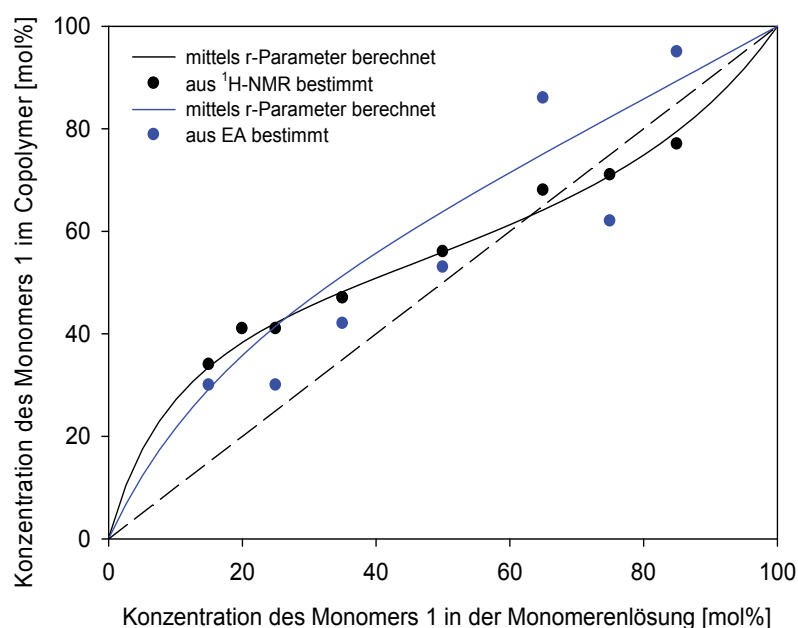


Abbildung 4.7: Copolymerisationsdiagramm mit der Auftragung der Monomerkonzentration von Monomer 1 (DMMEP) gegenüber der Konzentration im Copolymer: aus r-Parametern erwarteter Verlauf für das Copolymer (Linie), experimentell bestimmte Werte abhängig von der Analyseverfahren (Symbole).

Bei der Copolymerisation von *methy*/DMAEMA mit Stearylmethacrylat weisen die r-Parameter (laut $^1\text{H-NMR}$) mit $r(\text{methy/DMAEMA}) = 0,83$ und $r(\text{Stearylmethacrylat}) = 0,25$ auf ein bevorzugtes Einbauverhalten des Amins hin.^[134] Bei der Umsetzung des *methy*/DMAEMA mit DMMEP scheint das Phosphonat mit seiner Methacrylatfunktion leicht zu dominieren. Um höhere Ausbeuten zu erzielen, wurde die Polymerisation mit einer erhöhten Reaktionsdauer (18 bis 23 Stunden) bis zur vollständigen Umsetzung durchgeführt. Die Zusammensetzung der synthetisierten Copolymere Poly(DMMEP-co-*methy*/DMAEMA) befinden sich im Anhang (siehe Tabelle 10.2.).

4.2.4 Poly(DEVP-co-*methy*/DMAEMA)

Die Copolymerisation von DEVP mit Vinylacetat und Acrylonitril^[136] ist bereits beschrieben, eine Umsetzung mit aminofunktionalisierten Methacrylaten ist dagegen neu. Um die Fähigkeit zur Copolymerisation von DEVP mit DMAEMA einschätzen zu können, wird das Q, e-Schema nach ALFREY und PRICE betrachtet. Die Werte für $Q_1(\text{DEVP}) = 0,025$ und $e_1(\text{DEVP}) = 0,13$ ^[136] zeigen, dass das Comonomer schlecht resonanzstabilisierte Radikale bildet. Die Werte für $Q_2(\text{DMAEMA}) = 0,680$ und $e_2 = 0,470$ deuten eher auf gut resonanzstabilisierte Radikale hin. Durch die unterschiedliche Resonanzstabilität der beiden Comonomere würde es verstärkt nur zu einer Reaktion zwischen den schlecht stabilisierten

Radikalen von DEVP kommen. Daher würde die Bildung eines Homopolymers erwartet werden. Alternativ wird als Comonomer *methyIDMAEMA* in Erwägung gezogen. Für dieses Monomer liegen keine Q, e-Werte vor, so dass diese berechnet werden. Zur Berechnung werden die r-Parameter von Poly(DMMEP-co-*methyIDMAEMA*) aus Tabelle 4.4 herangezogen. Aufgrund der Variation der Reaktionsführung wurden zwei Datensätze an r-Parametern bestimmt. Die r-Parameter sind zwar vergleichbar, für die Ermittlung der Q, e-Werte werden dennoch beide Datensätze eingesetzt. In Tabelle 4.5 sind die berechneten Q, e-Werte dargestellt. Die beiden r-Parameter liefern denselben Wert für $e = -0,28$ und vergleichbare Q-Werte mit $Q = 0,40$ und $Q = 0,30$. Die e-Werte der beiden Comonomere mit $e(\text{DEVP}) = 0,13$ und $e(\text{methyIDMAEMA}) = -0,28$ unterscheiden sich im Vorzeichen, was auf verschiedene Polaritäten hindeutet. Der negative e-Wert beschreibt eine elektronenreiche Doppelbindung, die mit einer elektronenarmen Doppelbindung reagieren würde. Der positive e-Wert beschreibt solch eine Art an Verbindung.

Tabelle 4.5: Berechnete Q, e-Werte für das Monomer *methyIDMAEMA* aus den r-Parametern für das Poly(DMMEP-co-*methyIDMAEMA*).

eingesetzte r-Parameter (¹ H-NMR)	berechnete Q, e-Werte für <i>methyIDMAEMA</i>
$r_1 = 0,40; r_2 = 0,28^a$	$Q = 0,40; e = -0,28$
$r_1 = 0,53; r_2 = 0,21^b$	$Q = 0,30; e = -0,28$

a = Variante A; b = Variante B siehe Tabelle 4.4

Somit erlaubt das Q, e-Schema anhand der deutlich verschiedenen e-Werte eine Abschätzung, dass eine Copolymerisation zwischen DEVP und *methyIDMAEMA* unter Bildung alternierender Copolymere tendenziell stattfinden sollte.

Ergebnisse zu Poly(DEVP-co-*methyIDMAEMA*)

Die Darstellung des Copolymers aus DEVP und *methyIDMAEMA* konnte mit Ausbeuten zwischen 30 % und 63 % realisiert werden, allerdings ist eine Umsetzung der gewählten Verhältnisse in das Copolymer nicht möglich. In Tabelle 4.6 sind die Ergebnisse für die Zusammensetzungen aus den beiden Analysemethoden dargestellt. Die aus ¹H-NMR ermittelten Werte zeigen, dass mit höherem Anteil an DEVP im Comonomer der Anteil von DEVP im Copolymer steigt. Mit Ausnahme von Copolymer 3b verdeutlichen die Ergebnisse aus der EA denselben Trend. Insgesamt liegen die Konzentrationen für das DEVP im Copolymer doch deutlich unter denen von *methyIDMAEMA*, so dass eine genaue Einstellung der Verhältnisse für das System nicht möglich ist.

Tabelle 4.6: Zusammensetzung und Ausbeuten der synthetisierten Copolymere Poly(DEVP-co-*methyl*-DMAEMA).

Polymer	eingesetztes Verhältnis DEVP: <i>methyl</i> /DMAEMA [%]	Zusammensetzung im Copolymer [%]		Ausbeute [%]
		nach ¹ H-NMR	nach EA	
3a	80:20	38:62	n.b	32
3b	80:20	37:63	18:81	30
3c	75:25	28:72	24:76	34
3d	62:38	21:79	18:82	51
3e	50:50	17:83	16:84	54
3f	38:62	16:84	10:90	63

Eine Berechnung der Copolymerisationsparameter anhand der Daten führt zu keinen sinnvollen Ergebnissen. Die Werte für die Zusammensetzungen im Copolymer deuten aber auf ein dominierendes Einbauverhalten des Comonomers *methyl*/DMAEMA. Eine mögliche Erklärung für dieses Einbauverhalten ist der Unterschied in der Reaktivität der Monomere. Das DEVP trägt keine Methacrylatfunktion und ist deshalb weniger reaktiv. Diese Annahme wird durch den Ansatz von JIN et al. bekräftigt, bei dem die Umsetzung mit einem reaktiveren Comonomer bereits ein vergleichbar schlechtes Einbauverhalten des weniger reaktiven DEVP zeigte.^[136] Die Abschätzung nach dem Q, e-Schema besagt, dass eine Copolymerisation tendenziell möglich ist. Die Ergebnisse deuten zwar an, dass Copolymere gebildet werden. Die hier ausgewählten Monomere sind allerdings nicht für die Herstellung von Copolymeren unterschiedlicher Zusammensetzung geeignet. Somit führt die Beurteilung der Copolymerisationsfähigkeit anhand der Q, e-Werte für dieses Copolymersystem zu keiner guten Annäherung.

4.2.5 Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA)

Die zur Darstellung von Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) eingesetzten Monomere besitzen beide funktionelle Amine. Ziel ist es eine quartäre Ammoniumverbindung des Comonomers DMAEMA analog dem Copolymer Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) herzustellen (siehe Abbildung 4.2). Um die Akylkette am Stickstoffatom von DMAEMA einzuführen, wird der Ansatz gewählt zunächst DMAEMA mit Bromhexan umzusetzen und anschließend mit AEMA zu copolymerisieren (siehe Abbildung 4.8).

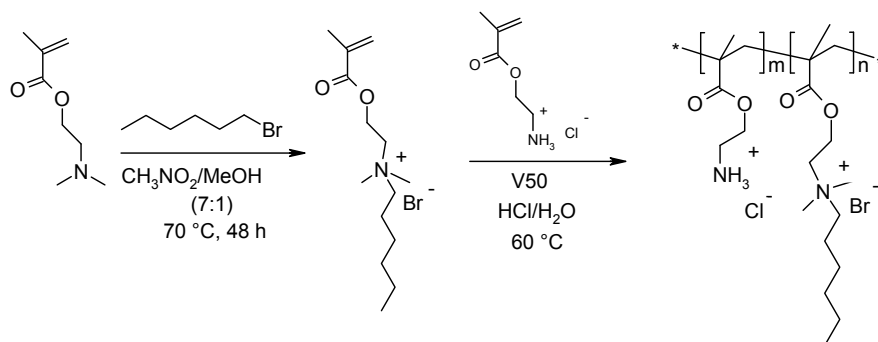


Abbildung 4.8: Darstellung von Poly(AEMA-co-*hexyl*DMAEMA) mit N-Alkylierung als ersten Schritt und anschließende Copolymerisation mit AEMA.

Die Reaktionsbedingungen werden wie bei der Quartärnisierung des synthetisierten Copolymers Poly(DMMEP-co-DMAEMA) gewählt. Die Reaktionszeit wird auf 48 Stunden herabgesetzt, um eine mögliche Polymerisation des Monomers zu unterbinden. Zur Aufreinigung wird das *hexyl*DMAEMA aus Methanol in Diethylether ausgefällt. Die Umsetzung mit AEMA erfolgt in Anlehnung an VAN DIJK-WOLTHUIS et al.^[137] in wässriger Lösung mit dem wasserlöslichen Initiator V50 und Zusatz von 1,3 molarer Salzsäure, um das protonierte Amin zu stabilisieren.

Ergebnisse zu Poly(AEMA-co-*hexyl*DMAEMA)

Das Monomer DMAEMA konnte zu 100 % mit Bromhexan zu *hexyl*DMAEMA umgesetzt werden, eine Ausbeute von 89 % wurde erreicht. Eine qualitative Analyse mittels FTIR-Spektroskopie liefert den Nachweis der charakteristischen Banden sowie das Signal bei 1640 cm^{-1} für die Valenzschwingungen der C=C-Doppelbindung.^[138] Eine quantitative Bestimmung mittels ^1H -NMR-Spektroskopie zeigt die charakteristischen Signale der eingeführten Alkylkette bei 0,9 ppm und 1,4 ppm sowie bei 3,6 ppm für die Protonen der CH_2 -Gruppe direkt am Stickstoffatom (siehe Kapitel 8). Die Protonen der Vinylbindung bei 5,7 und 6,2 ppm liefern den Nachweis für das vorhandene Monomer, allerdings ist die Intensität kleiner 1 und lässt vermuten, dass ein geringer Teil von ca. 13 % zum Oligomer reagiert hat. Die Umsetzung des alkylierten DMAEMA mit AEMA zum Copolymer erfolgte mit anschließender Aufarbeitung mittels Dialyse, so dass eventuelle Verunreinigungen durch Oligomere im Aufreinigungsprozess entfernt wurden.

Das Copolymerisationsdiagramm in Abbildung 4.9 zeigt bei geringen Anteilen (<40 %) einen bevorzugten Einbau von AEMA. Bis zu einem Anteil an 40 mol% AEMA weicht die theoretisch eingesetzte Konzentration von der im Copolymer deutlich ab und es werden keine idealen Copolymere gebildet. Erst ab einer Konzentration von 60 mol% AEMA nähern sich

die Verhältnisse im Copolymer der azeotropen Linie an und korrelieren folglich mit den eingesetzten Konzentrationen. Das dominierende Einbauverhalten des Monomers 1 spiegelt sich in den r -Parametern mit r_1 (AEMA) = 0,58 und r_2 (*hexyl*/DMAEMA) = 0,03 wider. Die Charakterisierung mittels ^1H -NMR Untersuchungen zeigt eine gute Annäherung zwischen den aus r -Parametern berechneten und experimentell bestimmten Konzentrationen, so dass diese Analysemethode für die Bestimmung der Copolymerisationsparameter für dieses System geeignet ist. Die Ermittlung anhand des Kohlenstoff-Stickstoff Verhältnisses über EA konnte nicht angewandt werden, da beide Comonomere ein Stickstoffatom als Funktionalität tragen.

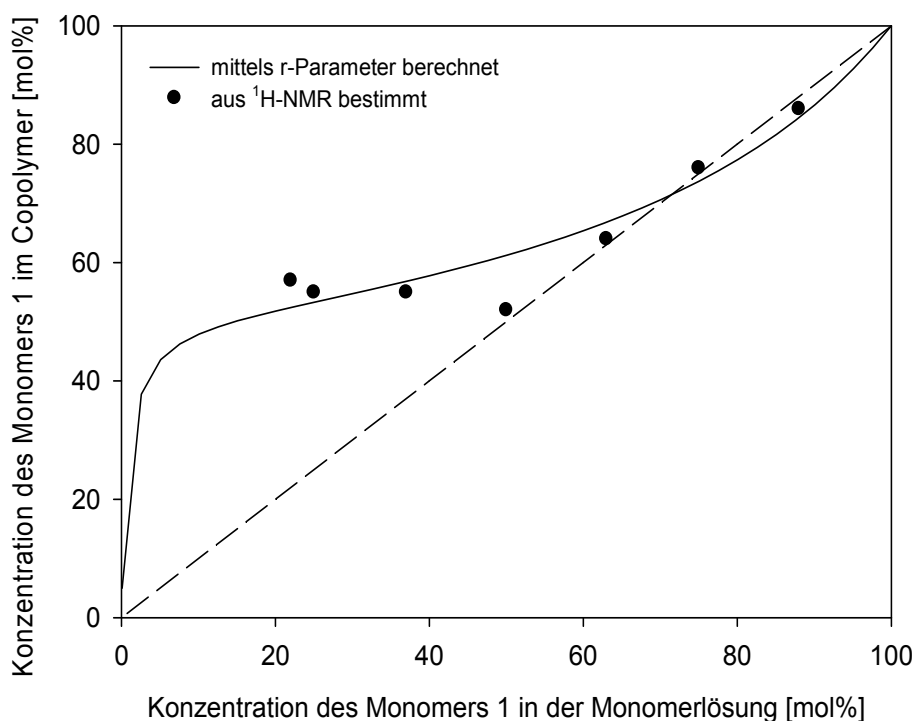


Abbildung 4.9: Copolymerisationsdiagramm mit der Auftragung der Monomerkonzentration von Monomer 1 (AEMA) gegenüber der Konzentration im Copolymer: aus r -Parametern erwarteter Verlauf für das Copolymer (Linie), experimentell bestimmte Werte (Symbole).

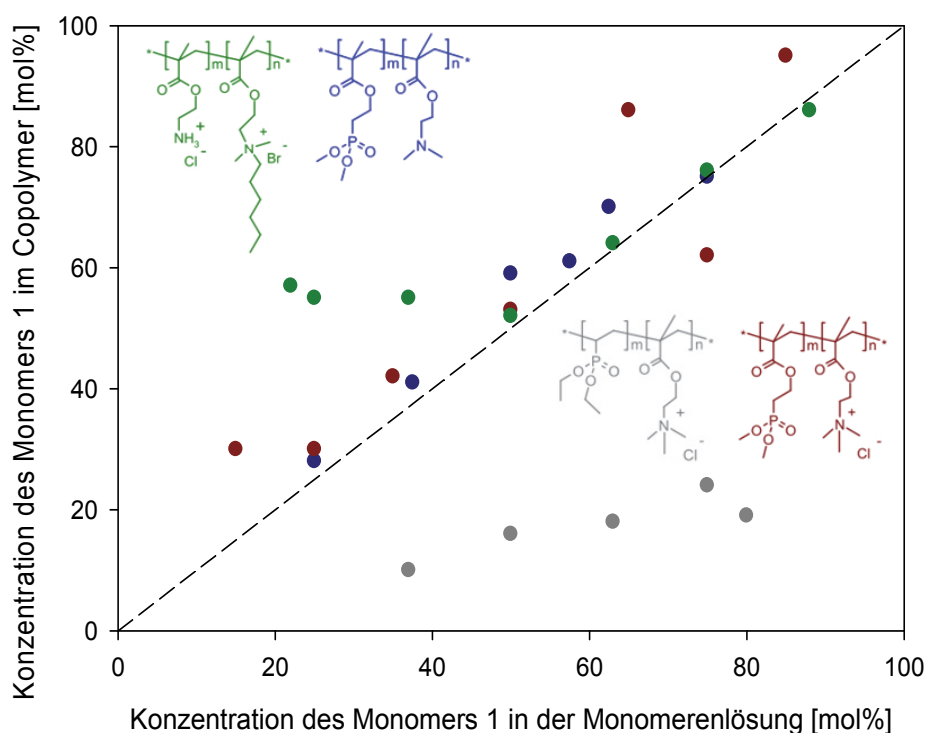
Die r -Parameter deuten an, dass eine Copolymerisation mit hohen Konzentrationen (etwa 60 % AEMA) auch bei hohen Umsätzen durchgeführt werden kann, ohne die Zusammensetzung der Ketten untereinander zu verändern. Die Zusammensetzung der Copolymere mit Ausbeuten von 59 % bis 82 % ist in Tabelle 4.7 dargestellt.

Tabelle 4.7: Zusammensetzung und Ausbeute von Poly(AEMA-co-*hexy*/DMAEMA) hergestellt nach einem freien radikalischen Mechanismus bei hohen Umsätzen.

Polymer	eingesetztes Verhältnis AEMA: <i>hexy</i> /DMAEMA [%]	Zusammensetzung im Copolymer [%] (¹ H-NMR)	Ausbeute [%]
4g	88:12	85:15	82
4h	75:25	74:26	81
4i	63:37	61:39	69
4j	50:50	52:48	63
4k	37:63	39:61	59

4.3 Zusammenfassung

Mittels freier radikalischer Polymerisation konnten Copolymere mit unterschiedlichen Zusammensetzungen hergestellt werden. Die Umsetzung der gewählten Verhältnisse in die verschiedenen Copolymersysteme ist in Abbildung 4.10 zusammengefasst.

**Abbildung 4.10:** Copolymerisationsdiagramm der hergestellten Copolymere: Poly(DMMEP-co-DMAEMA) vor der Alkylierung (blau), Poly(DMMEP-co-*methyl*/DMAEMA) (rot), Poly(AEMA-co-*hexy*/DMAEMA) (grün) und Poly(DEVP-co-*methyl*/DMAEMA) (grau).

Der Verlauf im Copolymerisationsdiagramm zeigt für die Systeme Poly(DMMEP-co-DMAEMA), Poly(DMMEP-co-*methyl*/DMAEMA) und Poly(AEMA-co-*hexy*/DMAEMA) eine recht gute Einstellung der Verhältnisse. Bei dem Copolymer Poly(DEVP-co-

methy/DMAEMA) hingegen erwies sich die Umsetzung als schwierig. Es konnten Zusammensetzungen mit nur einem maximalen Anteil von 38 mol% DEVP synthetisiert werden. Dieses Copolymerisationsverhalten lässt sich anhand der unterschiedlichen Reaktivität der Comonomere erklären. Das DEVP besitzt keine Methacrylatgruppe und ist im Vergleich zu den Monomeren DMMEP und AEMA weniger reaktiv. Das Kettenwachstum wird bevorzugt mit dem anderen Comonomer fortgeführt, so dass nur wenig des DEVP in das Copolymer eingebaut wird.

Im folgenden Kapitel soll die Anbindung der hergestellten Copolymere an Titanoberflächen anhand von ausgewählten Zusammensetzungen untersucht werden. Für weitere Experimente als potentiell kontaktbakterizide Polymere eignen sich Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA), Poly(DMMEP-co-*methy*/DMAEMA) und Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA), um eine Abhängigkeit zwischen der Zusammensetzung und antibakterieller Aktivität zu untersuchen.

5. Anbindung der Polymere

Die Anbindung der in Kapitel 4 hergestellten Homo- und Copolymere auf Titanoberflächen erfolgt über den einstufigen Prozess des Spin-Coatings. Durch direkten Kontakt der oberflächenaktiven Gruppen mit der Substratoberfläche werden über „*grafting-onto*“ Polymerfilme ausgebildet. Die Titansubstrate werden vor dem Beschichtungsprozess geschliffen und poliert, um eine homogene Oberfläche zu schaffen. Anschließend werden mögliche Verunreinigungen durch chemisches Reinigen mit verschiedenen Lösungsmitteln im Ultraschallbad entfernt. Die Polymere werden über Spin-Coating einer methanolischen Lösung mit einer Konzentration von 10 mg/ml auf die Titanoberfläche aufgebracht und bei 120 °C für ca. 24 Stunden thermisch behandelt. Dieser Tempervorgang dient zur Förderung der Anbindung der im Kontakt mit der Oberfläche stehenden Polymerketten.^[57, 58] Durch anschließendes Waschen im Ultraschallbad wird nicht angebondenes Polymer entfernt, so dass eine dünne Polymerschicht auf der Titan(oxid)oberfläche entsteht. Eine detaillierte Beschreibung der Behandlung der Substrate befindet sich in Kapitel 8.

Die Dicke der Polymerfilme wird ellipsometrisch bestimmt, indem an einer Blindprobe der komplexe Brechungsindex für die native Titan(oxid)schicht ermittelt wird und als Daten für die Substratoberfläche eingesetzt werden. Durch die Wahl eines geeigneten Schichtenmodells kann dann die Schichtdicke, des an die Titan(oxid)schicht gebundenen Polymerfilms, berechnet werden. Über Kontaktwinkelmessungen kann die Oberflächenspannung der Substrate bestimmt und daraus Rückschlüsse auf die Hydrophilie der Oberfläche getroffen werden. Gleichzeitig können Änderungen der Benetzungseigenschaften verfolgt werden. Zusätzlich sollen Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) Messungen an ausgewählten Proben einen Nachweis der chemischen Zusammensetzung der Polymere auf der Substratoberfläche liefern. Um Aussagen über die Homogenität der angebondenen Polymerfilme sowie deren Verteilung auf der Oberfläche machen zu können, werden Höhenprofile mittels Rasterkraftmikroskop (AFM) aufgenommen.

Im Folgenden wird die Anbindung der Copolymere über Phosphonatester- und Amingruppen beschrieben und ein Vergleich beider Anbindungsstrategien anhand der jeweiligen Homopolymere diskutiert.

5.1 Anbindung über Phosphonatestergruppen

Wie eingangs in Kapitel 2 beschrieben, werden Phosphonatgruppen^[53, 57, 64] und deren Ester^[58, 66] unter Ausbildung stabiler Monoschichten zur Anbindung an Titanoberflächen verwendet. Bei der Immobilisierung von Polymeren über oberflächenaktive Gruppen haben Untersuchungen gezeigt, dass zwischen dem Gyrationsradius des Polymers und der Schichtdicke der gebildeten Filme ein Zusammenhang besteht.^[139] Die einzelnen Polymerknäule lagern sich auf der Substratoberfläche an und bilden verschiedene Konformationen aus^[51], so dass über die Knäueldimension die Schichtdicke des Polymerfilms definiert wird. Ausgehend von diesem Anbindungsmechanismus sollten bei dem Einbau von Phosphonatgruppen in ein Copolymer Polymerfilme mit Schichtdicken resultieren, die über den Gyrationsradius des Copolymers bestimmt werden. ADDEN et al. haben Copolymere aus Vinylbenzylphosphonatester (VBP) und N-Acryloxysuccinimid (NASI) hergestellt.^[66] Die Anbindung des Copolymers an Titan(oxid)schichten resultierte in Schichtdicken von 2 bis 8 nm und zeigte eine Abhängigkeit der Filmdicke von dem Anteil an VBP. Die Resultate deuten auf eine Anbindung über die Phosphonatester im VBP unter Ausbildung dünner Monoschichten hin. Dabei liegt die Schichtdicke in dem Bereich, der für den Knäueldurchmesser der Polymere erwartet wird. Vergleichbare Resultate werden in der Arbeit von PFAFFENROTH erhalten, wo zur Anbindung die Phosphonatester VBP und Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP) in einem Copolymer mit Hexylvinylpyridinium eingesetzt wurden.^[47] Es wurden Polymerfilme mit vergleichbaren Schichtdicken im Bereich von 3 bis 11 nm beobachtet. Eine Abhängigkeit zwischen dem Anteil an Phosphonat im Copolymer und der Schichtdicke bekräftigte die Anbindung über die oberflächenaktiven Estergruppen. LORENZ et al. konnten hingegen keine Beziehung zwischen der Schichtdicke und dem Anteil an Phosphonat feststellen.^[140] Die Beschichtung der Copolymere aus VBP und Glycidylmethacrylat (GMA) auf Titan resultierte in 10fach dickeren Polymerfilmen im Bereich von 75 bis 80 nm. Diese hohen Schichtdicken deuten auf die Ausbildung von mehreren Schichten hin und lassen einen anderen Anbindungsmechanismus vermuten. Für dieses System wurde postuliert, dass eine partielle Hydrolyse der reaktiven Epoxidgruppen des GMA im Copolymer eine Ursache für die hohe Schichtdicke sein könnte. Durch Vernetzungsreaktionen zwischen den Polymerknäueln kommt es zur Ausbildung von dickeren Polymerfilmen.

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, in wie weit der Einsatz der beiden Phosphonatester DMMEP und Diethylvinylphosphonat (DEVP), kombiniert mit anderen Comonomeren, Einfluss auf die Ausbildung der Polymerfilme und deren Schichtdicke hat. Es

wird erwartet, dass bei den hier hergestellten Copolymeren der Anbindungsmechanismus über die Phosphonatestergruppen in Schichtdicken resultiert, die über den Gyrationradius des Copolymers bestimmt werden.

5.1.1 Ergebnisse zu Schichtdicke und Kontaktwinkel

Bei der Immobilisierung des Systems Poly(DMMEP-co-*hexy*/DMAEMA) (Copolymer 1) auf Titanoberflächen wurde beobachtet, dass nach der Beschichtung die Wahl des Lösungsmittels beim Waschen im Ultraschallbad einen Einfluss auf die Dicke der gebildeten Polymerfilme hat. Um nicht angebondenes Polymer zu entfernen, wurde zunächst mehrfach mit Methanol (MeOH) gewaschen und die Schichtdicke ellipsometrisch bestimmt. Es resultierten Polymerfilme mit Schichtdicken im Bereich von 4,5 bis 17 nm in Abhängigkeit von dem Anteil an DMMEP im Copolymer. Anschließend wurden dieselben beschichteten Proben mit Millipore-Wasser (H₂O) gewaschen. Die Charakterisierung mittels Ellipsometrie zeigte eine Abnahme der Filmdicken. In Abbildung 5.1 sind die Schichtdicken der beschichteten Proben in Abhängigkeit der Zusammensetzung im Copolymer 1, bestimmt nach dem jeweiligen Waschprozess, dargestellt.

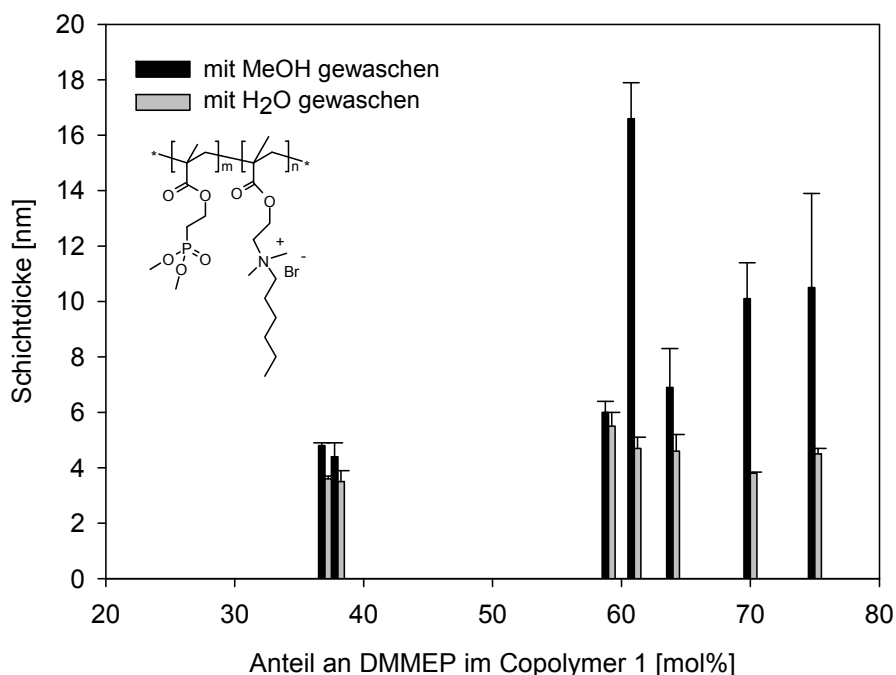


Abbildung 5.1: Schichtdicke in Abhängigkeit des Phosphonatanteils DMMEP im Copolymer 1 ellipsometrisch bestimmt nach dem Waschprozess mit MeOH (schwarze Balken) und Millipore-H₂O (graue Balken).

Auffällig ist der höchste Wert von ungefähr 17 nm für 61 mol% DMMEP, der aber nach dem Waschen mit H₂O deutlich auf unter 5 nm abnimmt. Insgesamt scheint der Einfluss des Lösungsmittels bei den Beschichtungen mit hohem Anteil an DMMEP stärker zu sein, was

die Hydrophilie und folglich bessere Löslichkeit des Phosphonats in Wasser erklären würde. Die signifikanten Unterschiede in den Filmdicken zwischen den Waschprozessen sind vermutlich auf eine inhomogene Schicht durch Verschlaufungen mit nicht angebondenen Polymerketten zurückzuführen. Das Waschen der beschichteten Proben mit einem polareren Lösungsmittel bewirkt, dass nicht angebondenes Polymer zusätzlich entfernt wird. Folglich nimmt die gemessene Schichtdicke nach dem Waschprozess mit Millipore-H₂O deutlich ab.

Für weitere Untersuchungen wurde der Waschprozess der mit Copolymer 1 beschichteten Proben immer mit Millipore-H₂O durchgeführt. Bei den Polymeren Poly(DMMEP-co-*methy*/DMAEMA) (Copolymer 2) und Poly(DEVP-co-*methy*/DMAEMA) (Copolymer 3) wurde ebenfalls nach dem Waschen mit Millipore-H₂O eine Abnahme der Schichtdicke beobachtet, so dass sich auch für diese Systeme Wasser als geeignetes Lösungsmittel zum Entfernen von nicht angebondenem Polymer erweist. Um Substrate mit einer stabilen und homogenen Beschichtung aus nur angebondenem Polymer zu erhalten, werden alle Proben nach dem Tempervorgang mit H₂O im Ultraschallbad gereinigt.

Ein Vergleich der Copolymersysteme mit Phosphonatestergruppen als Comonomer in Hinblick auf Schichtdicke und Kontaktwinkel ist in Tabelle 5.1 dargestellt.

Tabelle 5.1: Daten zu Schichtdicke und Kontaktwinkel der beschichteten Proben mit Copolymer 1 bis 4 verschiedener Zusammensetzung.

Probe	Anteil an Phosphonat [mol%] ¹	Schichtdicke [nm]	Kontaktwinkel [°]	
			adv	rec
Poly(DMMEP-co- <i>hexy</i> /DMAEMA)				
1a	75	4,5 ± 0,2	47 ± 1	29 ± 2
1c	70	3,8 ± 0,04	44 ± 2	25 ± 3
1b	64	4,6 ± 0,6	49 ± 2	34 ± 3
1d	61	4,7 ± 0,4	52 ± 1	34 ± 2
1f	38	3,5 ± 0,4	57 ± 2	38 ± 1
1g	37	3,6 ± 0,1	64 ± 1	44 ± 1
Poly(DMMEP-co- <i>methy</i> /DMAEMA)				
2e	68	4,2 ± 0,4	43 ± 1	24 ± 1
2f	60	4,1 ± 0,5	35 ± 1	13 ± 1
2p	36	3,4 ± 0,6	29 ± 1	12 ± 1
Poly(DEVP-co- <i>methy</i> /DMAEMA)				
3b	37	2,5 ± 0,2	41 ± 1	22 ± 1
Poly(DMMEP)		7,0 ± 0,9	44 ± 2	29 ± 2

¹Zusammensetzung bestimmt aus EA für Copolymer 1 und aus ¹H-NMR für Copolymer 2 und 3

Die Beschichtungen des Copolymers 1 bilden Filme im Bereich von 3,5 bis 4,7 nm aus und deuten auf eine leichte Abhängigkeit der Schichtdicke vom Phosphonatanteil mit Ausnahme der Probe 1b mit 70 mol% DMMEP und einer Filmdicke von 3,8 nm. Das Copolymer 2 zeigt ebenfalls eine Zunahme der Schichtdicke von 3,4 nm (mit 36 mol% DMMEP) auf 4,2 nm (mit 68 mol% DMMEP). Die Schichtdicken für das Homopolymer Poly(DMMEP) liegen bei $7,0 \pm 0,9$ nm und sind vergleichbar mit vorherigen Untersuchungen.^[122]

In Abbildung 5.2 sind die Schichtdicken der Copolymere 1 bis 3 gegenübergestellt und zeigen für das Copolymer 3 mit DEVP als Phosphonatester die geringste Filmdicke. Es konnten Copolymere mit nur maximal 38 mol% an DEVP hergestellt werden (siehe Kapitel 4). Für einen Vergleich zwischen den beiden Phosphonatestern wurden vergleichbare Zusammensetzungen betrachtet. Daher wurde nur die Zusammensetzung 3b mit 37 mol% beschichtet. Die Probe 2p (36 mol% DMMEP) weist eine etwas höhere Schichtdicke von 3,4 nm als die Beschichtung 3b (37 mol% DEVP) mit 2,5 nm auf.

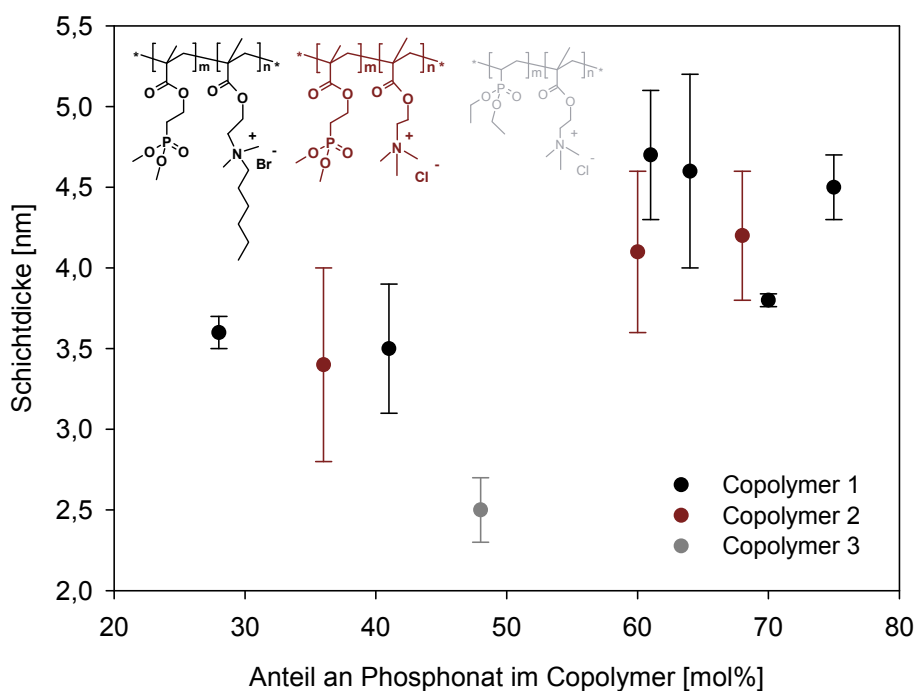


Abbildung 5.2: Schichtdicke der beschichteten Proben mit Copolymer 1 bis 3 in Abhängigkeit der Konzentration an Phosphonatester.

Die Polymerbeschichtungen besitzen dasselbe Comonomer *methyl*DMAEMA, unterscheiden sich aber im Phosphonatester. Die Werte der Schichtdicke deutet darauf hin, dass die Anbindung über DMMEP in etwas höheren Schichten im Vergleich zum DEVP resultiert. Eine Anbindung des Homopolymers DEVP über einen photochemischen Benzophenonanker auf Glasoberflächen zeigte Schichtdicken um 4,0 nm, die im Vergleich zu Poly(DMMEP) mit

9,0 nm deutlich geringer waren.^[122] So kann vermutet werden, dass womöglich eine schlechtere Benetzung des DEVP in der Ausbildung dünnerer Filme resultiert.

Bei der Bildung von Polymerfilmen über „*grafting-onto*“ werden oberflächenaktive Gruppen im Polymerrückgrad eingesetzt, um an die Substratoberfläche zu binden. Über diese Methode werden maximale Schichtdicken erreicht, die einen Zusammenhang zwischen Schichtdicke und Gyrationradius und somit dem Molekulargewicht des angebundenen Polymers haben.^[139] Die Anbindung der hier entwickelten Copolymere 1 bis 3 erfolgte über die oberflächenaktiven Phosphonatestergruppen und resultierte insgesamt in recht dünnen Polymerfilmen mit Schichtdicken im Bereich von 2 bis 5 nm. Bei dem Copolymer 1 wurden Molekulargewichte zwischen 69 000 und 252 000 g/mol bestimmt (siehe Tabelle 4.2, Seite 54). Ein Zusammenhang zwischen dem Molekulargewicht und der Schichtdicke ist nicht zu erkennen. Im Vergleich dazu hat das Homopolymer Poly(DMMEP) mit 2 200 000 g/mol ein deutlich höheres Molekulargewicht und bildet etwas höhere Schichtdicken von 7 nm aus. Bei einer Abschätzung des Gyrationradius sollte eine Anbindung über die Phosphonatestergruppen in Schichtdicken von wenigen Nanometern resultieren.^[66] So liegen die ellipsometrisch bestimmten Werte für die Schichtdicken der Polymerfilme eher im unteren Bereich der zu erwartenden Knäueldimensionen. Eine Abhängigkeit zwischen der Schichtdicke und der Zusammensetzung im Copolymer, speziell dem Phosphonatgehalt ist ein weiteres Indiz für eine erfolgreiche Anbindung der Polymere. So kann vermutet werden, dass die Zunahme der oberflächenaktiven Phosphonatestergruppen auch in einem Anstieg der Anzahl an Bindungsstellen für die Polymerketten auf der Substratoberfläche resultiert.

Die Kontaktwinkelmessungen ermöglichen die Benetzungseigenschaften der Copolymerbeschichtungen zu beurteilen. Das Copolymer 1 zeigt in Abhängigkeit von der Zusammensetzung für den vorderen Winkel (θ_{adv}) Werte im Bereich von 44 bis 64° und für den hinteren (θ_{rec}) 25° bis 44° (siehe Tabelle 5.1). Mit abnehmendem Anteil an DMMEP steigt der Kontaktwinkel und somit die Hydrophobie des Systems. Der Kontaktwinkel für das Poly(DMMEP) mit $\theta_{adv} = 44 \pm 2^\circ$ und $\theta_{rec} = 29 \pm 2^\circ$ ist vergleichbar mit den Werten für die Zusammensetzungen mit hohem Anteil an DMMEP. Somit könnte die ansteigende Tendenz des Kontaktwinkels bedingt durch die Abnahme des hydrophilen DMMEP, aber auch durch die Zunahme der Hexylketten im Copolymer sein, so dass die Proben mit einem hohen Anteil an *hexyl*/DMAEMA hydrophober werden. Ein Vergleich der Copolymere 1 bis 3 unter Betrachtung des vorderen Winkel ist in Abbildung 5.3 dargestellt.

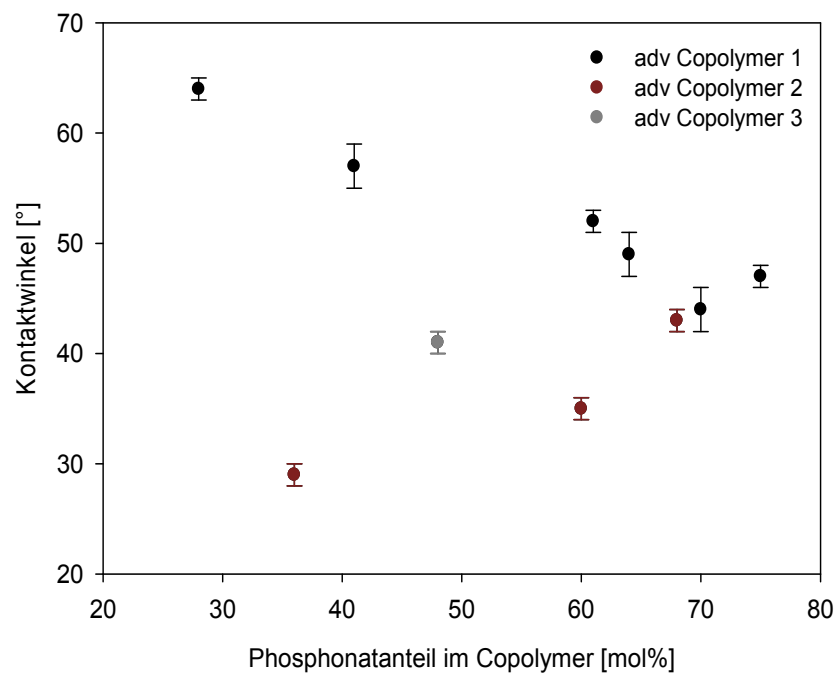


Abbildung 5.3: Darstellung der vorderen (adv) Kontaktwinkel der beschichteten Proben für Copolymere 1 bis 3 in Abhängigkeit der Konzentration an Phosphonatester.

Im Copolymer 2 enthält die quartäre Ammoniumgruppe nur Methylgruppen aber keine länger-kettige hydrophobe Hexyleinheit. Daher erfolgt auch kein Anstieg der Kontaktwinkel, wenn mehr Ammonium-einheiten im Copolymer eingebaut werden. Dieser Trend bekräftigt die Annahme, dass im Copolymer 1 die Zunahme der Hexyleinheiten die Hydrophobie der Beschichtung steigert.

Die Kontaktwinkel des Copolymers 3 mit $\theta_{\text{adv}} = 41^\circ$ und $\theta_{\text{rec}} = 22^\circ$ lassen vermuten, dass auch hier das Comonomer *methyl*DMAEMA die Hydrophilie des Systems ausmacht. Das reine Polymer Poly(DEVP) wird mit Kontaktwinkeln von $\theta_{\text{adv}} = 53^\circ$ und $\theta_{\text{rec}} = 33^\circ$ eher als hydrophob eingeschätzt.^[122] Insgesamt zeigen die Kontaktwinkel-messungen eine recht gute Einstellung der Hydrophilie über die Wahl der Zusammensetzung der jeweiligen Comonomere im Copolymer. Gleichzeitig liegen die Kontaktwinkel deutlich über den Werten für das unbeschichtete Titan mit $\theta_{\text{adv}} = 33^\circ$ und $\theta_{\text{rec}} = 22^\circ$ ^[99] und weisen zugleich auf eine erfolgreiche Anbindung der Copolymere 1 bis 3 an die Titan(oxid)schicht hin.

Die Untersuchungen mittels Ellipsometrie und Kontaktwinkel-messungen liefern Ergebnisse, die vergleichbar mit der Anbindung anderer Systeme über Phosphonatester sind.^[99, 122, 140] Die Anbindung der Copolymere führt zu dünnen Polymerfilmen, die unter Abschätzung des Gyrationsradius im unteren Bereich der Knäuel-dimension liegen. Ein Zusammenhang zwischen Schichtdicke und Phosphonat-gehalt bekräftigt die Anbindung über die

oberflächenaktiven Gruppen an die Titan(oxid)schicht. Zugleich lässt die Bildung einer Monoschicht aus Polymerknäuel mit sehr dünnen Filmdicken vermuten, dass eine inhomogene Verteilung der Polymerknäule auf der Substratoberfläche mit in Betracht gezogen werden muss. Die Resultate der Schichtdicke und Kontaktwinkel liefern einen ersten Hinweis auf eine erfolgreiche Anbindung der Polymere auf Titan(oxid)oberflächen. Diese Annahme soll durch weitere Untersuchungen bekräftigt werden, die im Folgenden beschrieben werden.

5.1.2 Ergebnisse der XPS Untersuchungen

Für den Nachweis der chemischen Zusammensetzung der Polymere an der Substratoberfläche wurden Untersuchungen mittels XPS exemplarisch an dem System Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) mit hohem Anteil an Phosphonat durchgeführt. Es wurden Beschichtungen des Copolymers 1b mit 64 mol% DMMEP und 1c mit 70 mol% DMMEP, sowie als Referenz ein reines Ti6Al4V-Plättchen analysiert. Für das reine Titansubstrat wurden neben Titan und Aluminium, als Bestandteile der Legierung, weitere Elemente wie Sauerstoff, Stickstoff und Kohlenstoff detektiert. In Tabelle 5.2 sind die Konzentrationen der jeweiligen Atome aufgelistet. Der Nachweis von Kohlenstoff wird häufig auch auf reinen Substratoberflächen beobachtet^[53, 141] sowie geringe Anteile von Stickstoff.^[48, 141, 142] Bei dem Einsatz von Titanoberflächen ist bekannt, dass sie an der Atmosphäre spontan eine Oxidschicht mit Schichtdicken von 3 bis 6 nm ausbilden.^[55] Daher wird bei der Untersuchung der reinen Substrate neben Titan auch Sauerstoff als Element erwartet. Unter der Annahme, dass Titan bevorzugt als Ti(IV)-Spezies in der Oxidschicht vorliegt, wird ein Verhältnis Titan zu Sauerstoff von 1:2 angenommen. Die XPS Messungen liefern ein abweichendes Verhältnis von 1:3,7. Durch die Rückstände von Kohlenstoff ist auch eine Anwesenheit von Carbonyl- und Etherverbindungen denkbar. Diese Annahme wird durch das hochaufgelöste Sauerstoff Spektrum unterstützt, welches neben den erwarteten Bindungsenergien für die Titandioxidschicht bei 530 eV mit 54,9 % zusätzliche Signale bei 531,6 eV (43,8 %) und 533,7 eV (1,3 %) zeigt. Die Bindungsenergie bei 531,6 eV wird Carbonylverbindungen zugeordnet, wohingegen eine Verschiebung zu 533,7 eV durch Rückstände von Etherverbindungen beschrieben wird.^[141] Zusätzlich können andere Rückstände wie von VIORNERY et al. diskutiert vorkommen. Diese Arbeiten beschäftigen sich mit der Modifizierung von Titanoberflächen mit Phosphonsäuren und beschreiben mögliche Vorkommen von atmosphärischen Sauerstoff und chemisorbiertem Wasser, was sich durch das Arbeiten in wässriger Lösung erklären lässt. Bei den hier untersuchten Beschichtungen deuten die zusätzlichen Signale des Sauerstoffs vielmehr auf funktionelle

Kohlenstoffverbindungen hin, die zusätzlich erklären könnten, warum Kohlenstoff häufig auf Substratoberflächen gemessen wird.

Wird nur das Signal für die Titan(oxid)schicht bei 530 eV betrachtet, ergibt sich eine Atomkonzentration von 26,7 % für den Sauerstoff und entsprechend ein Titan zu Sauerstoff Verhältnis von 1:2.

Tabelle 5.2: Daten zur elementaren Zusammensetzung aus XPS Messungen von unbeschichteten Titansubstraten und mit Copolymer 1 beschichteten.

Probe	Atomkonzentration [%]					weitere Elemente	
	C 1s	O 1s	Ti 2p	P 2p	N 1s	Al 2p	Zn 2p
TiAl6V4-Substrat	30,3	50,3	13,5	-	1,4	4,6	-
Copolymer 1b (XPS)	55,9	33,0	4,5	3,7	2,9	-	0,1
	$\pm 0,1$	$\pm 0,4$	$\pm 0,1$	$\pm 0,3$	$\pm 0,2$		$\pm 0,1$
Copolymer 1b (ohne TiO ₂)	64,6	27,7	-	4,3	3,4	-	-
Copolymer 1b (theo.)	67,6	25,7	-	4,2	2,4	-	-
Copolymer 1c (XPS)	51,0	37,8	4,2	4,2	2,7	-	0,1
Copolymer 1c (ohne TiO ₂)	55,9	36,6	-	4,6	3,0	-	-
Copolymer 1c (theo.)	67,9	25,5	-	4,1	2,5	-	-

Die Untersuchungen der Beschichtungen des Copolymers 1b und 1c zeigen eine signifikante Zunahme der Kohlenstoff- und Stickstoffsignale im Bezug zu reinem Titan. Zudem wird Phosphor als Element detektiert, welches auf die chemische Zusammensetzung der Copolymere zurückzuführen ist. Die verschiedenen Atomkonzentrationen sind in Tabelle 5.2 aufgeführt. Zur Beurteilung der Messgenauigkeit erfolgte für die Beschichtung des Copolymers 1b eine Mehrfachbestimmung. Die geringe Standardabweichung von maximal 0,4 % deutet auf eine gute Reproduzierbarkeit der mittels XPS bestimmten Atomkonzentrationen. Das Element Zink wurde nur auf den beschichteten Proben gemessen und scheint während des Beschichtungsprozesses womöglich auf die Oberfläche gelangt zu sein. Allerdings ist der Anteil mit 0,1 % vernachlässigbar klein und wird nicht näher verfolgt. Neben den bereits genannten Elementen wird Titan im Vergleich zu unbeschichteten Substraten mit einer geringen Konzentration von 4,2 und 4,5 % bestimmt. Bei den zu untersuchenden Proben handelt es sich um dünne Polymerfilme mit Schichtdicken zwischen 3 und 5 nm. Die Eindringtiefe der Strahlung der Photonen im XPS beträgt etwa 10 nm, so dass ein Nachweis der Elemente der Substratoberfläche wie Titan und Sauerstoff nicht verwunderlich ist.^[141] Gleichzeitig bekräftigen die Signale des Substrats die dünnen Schichten des Polymerfilms. Bei der gemessenen Atomkonzentration des Sauerstoffs wird daher

angenommen, dass der Anteil nicht nur dem Copolymer sondern auch der Oxidschicht entspricht. Die Werte der beschichteten Proben werden um die Titan(oxid)schicht korrigiert. Mit der Annäherung des Titan zu Sauerstoff Verhältnisses von 1:2 wird aus dem detektierten Anteil an Titan der zugehörige Sauerstoffgehalt berechnet. Beide Anteile werden subtrahiert und die Atomkonzentrationen der anderen Elemente auf 100 % angepasst. Die korrigierten und theoretischen Werte für die Polymerbeschichtungen aus Tabelle 5.2 sind für das Copolymer 1b exemplarisch in Abbildung 5.4 dargestellt. Nach der Korrektur zeigt sich eine gute Übereinstimmung mit den theoretischen Werten.

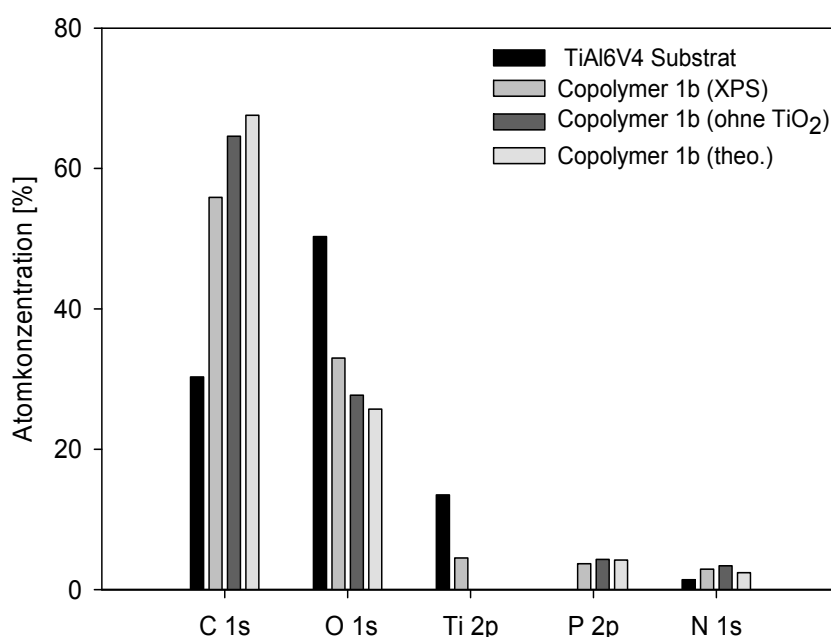


Abbildung 5.4: Darstellung der Atomzusammensetzung des reinen TiAl6V4-Substrats und der Beschichtung mit Copolymer 1b aus den XPS Untersuchungen sowie eine Auftragung der um die Titan(oxid)schicht korrigierten und theoretischen Werte.

Die XPS Messungen liefern einen Nachweis für die chemischen Elemente der Beschichtung und bekräftigen eine erfolgreiche Anbindung der phosphonathaltigen Copolymere. Inwieweit die Zusammensetzung des Copolymers mittels XPS bestimmt werden kann, soll das Phosphor zu Stickstoff Verhältnis zeigen. Für die Polymerfilme resultiert ein Verhältnis von 1,26 für Polymer 1b und 1,56 für Polymer 1c, welches unter dem aus der Elementaranalyse (EA) bestimmten mit 1,78 (1b) und 2,33 (1c) liegt. Die Abweichung der Daten zu denen der EA könnten mit der Anordnung der Polymerknäule zusammenhängen. Der Phosphor im Copolymer orientiert sich in Richtung der Titanoberfläche, da über diese Gruppen angebunden wird. Demzufolge wird weniger Phosphor detektiert und das Phosphor zu Stickstoff Verhältnis ändert sich zugunsten des Stickstoffs.

Anhand der hochaufgelösten Spektren können zusätzlich zu dem Nachweis der Elemente auch die verschiedenen funktionellen Gruppen betrachtet werden. In Abbildung 5.5 ist das C 1s Spektrum dargestellt. Durch das Fitten des Hauptpeaks ergeben sich die Signale A bis D mit verschiedenen Bindungsenergien, die unterschiedlichen Kohlenstoffverbindungen im Polymer zugeordnet werden können.

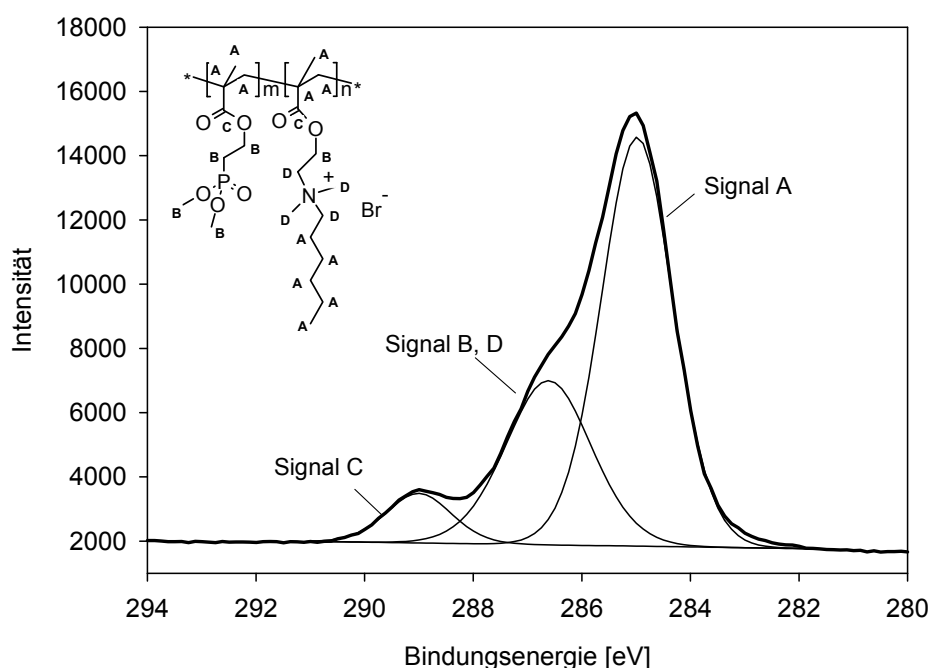


Abbildung 5.5: Hochaufgelöstes C 1s Spektrum der Beschichtung mit Copolymer 1 mit drei Signalen, die verschiedenen Kohlenstoffbindungen im Copolymer zugeordnet werden: Signal A (285 eV), Signal B, D (286,5 eV), C (289 eV).

Das Signal A bei 285 eV wird aliphatischen Kohlenstoffverbindungen zugeordnet. Eine C-O-Bindung führt zu einer Verschiebung zu 286 eV (Signal B) und eine C-NR₃⁺-Bindung zu 286,5 eV (Signal D). Die beiden Signale sind aufgrund der geringen Unterschiede schwer zu differenzieren, so dass sie beide einem Signal mit einer Peakenergie von 286,5 eV zugeordnet werden. Die größte Verschiebung zu 289 eV ist charakteristisch für eine C=O-Bindung (Signal C). Die verschiedenen Anteile für die Signale aus dem C 1s Spektrum sind in Tabelle 5.3 für die Beschichtungen mit Copolymer 1b und 1c dargestellt. Die gemessenen Werte liefern eine gute Annäherung zu den theoretischen Werten.

Tabelle 5.3: Daten zu den Anteilen der verschiedenen Signale A bis D im C 1s Spektrum der Copolymerbeschichtungen 1b und 1c sowie theoretisch bestimmte Werte.

Beschichtung	C 1s [%]		
	A 285 eV	B, D 286,5 eV	C 289 eV
Copolymer 1b (XPS)	63,9	30,2	6,9
Copolymer 1b (theo.)	47,5	42,8	9,8
Copolymer 1c (XPS)	50,0	35,4	14,6
Copolymer 1c (theo.)	47,7	42,6	9,7

Bei der Beschichtung 1b liegt der größte Anteil von 64 % bei 285 eV (Signal A) über dem erwarteten Wert von 48 %. Bei Copolymer 1c stimmt der gemessene Wert von 50 % (Signal A) mit dem theoretischen von 48 % gut überein. Da Kohlenstoff auch auf Substratoberflächen gemessen wird^[141], könnten Verunreinigungen auf der Oberfläche für die Überbestimmung des Signals verantwortlich sein. Die ermittelten Werte bei 286,5 eV für die Signale B und D liegen mit 30 % (1b) bzw. 35 % (1c) etwas unter dem theoretischen Anteil von 43 % für beide Beschichtungen. Die beste Übereinstimmung liefern die Werte für das Signal C bei 289 eV. Der gemessene Anteil von 7 % (1b) weicht nur gering von dem Erwartungswert von 10 % ab. Das Copolymer 1c zeigt vergleichbare Ergebnisse mit einem etwas höheren Anteil von 15 % als dem theoretischen von 10 %. Insgesamt ermöglichen die XPS Messungen eine gute Zuordnung der einzelnen Signale im C 1s Spektrum mit einer hinreichenden Annäherung an die theoretischen Werte.

Die Auswertung der Signale im hochaufgelösten O 1s Spektrum hingegen erweist sich als schwierig aufgrund der Tatsache, dass auch Sauerstoffanteile der Oxidschicht mitberücksichtigt werden müssen. In Abbildung 5.6 ist das O 1s Spektrum mit den verschiedenen Signalen dargestellt. Die charakteristische Bindungsenergie für die Titan(oxid)schicht liegt bei 530,5 eV^[141], aber auch im Bereich zwischen 529,9 und 530,9 eV. Das Signal mit der Bindungsenergie von 533,4 eV besitzt die höchste Verschiebung und kann dem Carboxylsauerstoff (Signal b) und dem Sauerstoff der Estergruppe zugeordnet werden. Bei der Bindungsenergie von 531,4 eV überlappen die Signale der C=O-Bindung (Signal a), P=O-Bindung sowie P-O-Ti-Anbindung (beide entsprechen Signal c).^[141, 143]

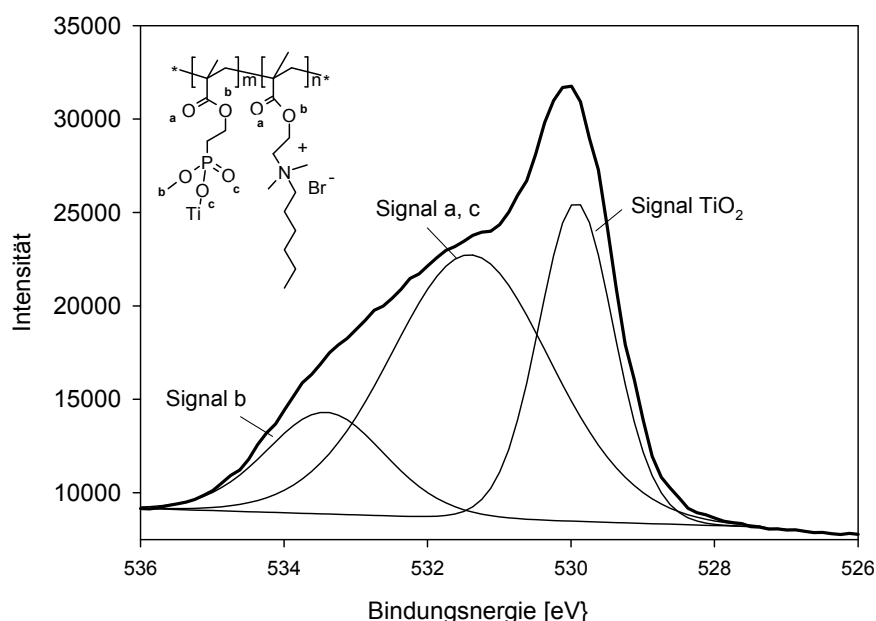


Abbildung 5.6: Hochauflöstes O 1s Spektrum der Beschichtung mit Copolymer 1 mit vier Signalen, die verschiedenen Sauerstoffbindungen im Copolymer zugeordnet werden: Signal a (531,4 eV), Signal b (533,4 eV) und Signal c (531,5-532 eV). Das Signal für das TiO₂ liegt im Bereich 529,5 eV bis 530,5 eV.

Wie Tabelle 5.4 zeigt, kann ein Fitten des Hauptpeaks im O 1s Spektrum in drei oder vier Signalen resultieren. Die Beschichtung mit Copolymer 1b deutet bei 530,5 eV mit 31 % auf einen recht hohen Anteil für die Titan(oxid)schicht hin. Bei der mit Copolymer 1c beschichteten Probe ergibt das Fitten zwei Signale, die im Bereich der Titan(oxid)schicht liegen. Die beiden Peaks bei 529,5 eV mit 12 % und 530,5 eV mit 33 % zeigen nochmals einen erhöhten Wert für die Oxidschicht.

Tabelle 5.4: Daten der verschiedenen Signale im O 1s Spektrum der Polymerbeschichtungen 1b und 1c sowie angepasste (ohne TiO₂) und theoretisch berechnete Werte anhand zweier Modelle zur Anbindung über P-O-Ti-Bindungen.

Beschichtung	O 1s [%]			
	TiO ₂ 529,5 eV	TiO ₂ 530,5 eV	a, c 531,4-531,5 eV	b 533,2-533,4 eV
Copolymer 1b (XPS)		30,7	53,9	15,3
ohne TiO ₂			77,9	22,1
Copolymer 1c (XPS)	11,5	32,5	38,0	18,0
ohne TiO ₂			67,9	32,2
Anbindung über eine P-O-Ti-Bdg. (theo.)			58,0	42,0
Anbindung über zwei P-O-Ti-Bdg. (theo.)			74,0	26,0

Um die gemessenen Werte mit den theoretischen zu vergleichen, wird der Anteil der Oxidschicht im Bereich von 529,5 eV bis 530,5 eV subtrahiert und die anderen Signale auf 100 % angepasst. Aus den korrigierten Werten ergeben sich für die Signale a und c die Anteile von 78 % (1b) bzw. 68 % (1c) sowie für Signal b 22 % (1b) bzw. 32 % (1c). Um die gemessenen Werte beurteilen zu können, muss ein Vergleich mit den Erwartungswerten vorgenommen werden.

Für die Anbindung über Phosphonatestergruppen werden wie in Kapitel 2.1 verschiedene Mechanismen postuliert. Dabei kann es sowohl zur Ausbildung einer aber auch zweier P-O-Ti-Bindungen kommen. Die Berechnung der theoretischen Werte wird daher unter Berücksichtigung beider Modelle vorgenommen (siehe Tabelle 5.4). Bei der Anbindung des Polymers über eine P-O-Ti-Bindung würde eine Verteilung von 58 % (531,4 eV) und 42 % (533,4 eV) erwartet werden. Die Anbindung über zwei P-O-Ti-Bindungen hingegen resultiert in einer Abnahme des Anteils an Estergruppen (Signal b). Daraus ergibt sich eine theoretische Verteilung von 74 % (531,4 eV) und 26 % (533,4 eV). Die um die Titan(oxid)schicht korrigierten Werte von 78 % (531,4 eV) und 22 % (533,4 eV) für 1b liefern eine gute Übereinstimmung mit den Theoretischen, wenn das Modell der Anbindung über zwei P-O-Ti-Bindungen betrachtet wird. Bei der Beschichtung 1c liegen die Werte mit 68 % (531,4 eV) und 32 % (533,4 eV) zwischen den theoretischen Werten für beide Modelle. So kann angenommen werden, dass beide Anbindungsmechanismen möglich sind. Bei der Berechnung der theoretischen Anteile wird nicht berücksichtigt, dass im Copolymer nicht jede vorhandene Gruppe an die Oberfläche bindet. Eine konkrete Aussage über den Anbindungsmechanismus wird erschwert und kann allein anhand der hochaufgelösten Daten aus dem O 1s Spektrum nicht beurteilt werden. Insgesamt zeigen die hochaufgelösten Spektren von Kohlenstoff und Sauerstoff charakteristische Peaks für die verschiedenen Bindungen der funktionellen Gruppen im Copolymer. Eine exakte Zuordnung wird durch Faktoren der Substratoberfläche wie einen erhöhten Kohlenstoffanteil und die Ausbildung einer Titan(oxid)schicht dennoch erschwert.

Bei den zu untersuchenden Beschichtungen wurde versucht, neben den Elementen Kohlenstoff, Sauerstoff sowie Stickstoff und Phosphor, auch Brom im Polymersystem zu detektieren. Allerdings konnte mit den XPS Messungen kein Brom im Spektrum nachgewiesen werden. Es ist bekannt, dass Brom durch die Röntgenstrahlung sehr stark beeinflusst wird. Daher ist eine Quantifizierung in der Regel nicht möglich. Zur Beurteilung der Quartärnisierung wird das hochaufgelöste Stickstoff (N 1s) Spektrum herangezogen.

Aufgrund verschiedener Bindungsenergien kann zwischen einer quartären Stickstoffbindung ($\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$) und einer einfachen Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung (C-N) differenziert werden. Das hochaufgelöste Spektrum in Abbildung 5.7 zeigt exemplarisch für die Beschichtung des Copolymers 1b zwei Signale. Das Signal bei 400,2 eV ist ein Nachweis für eine C-N-Bindung, wohingegen die Ladung eines quartären Stickstoffs zu einer Verschiebung der Bindungsenergie führt und bei 402,6 eV ein charakteristischer Peak gemessen wird.^[143]

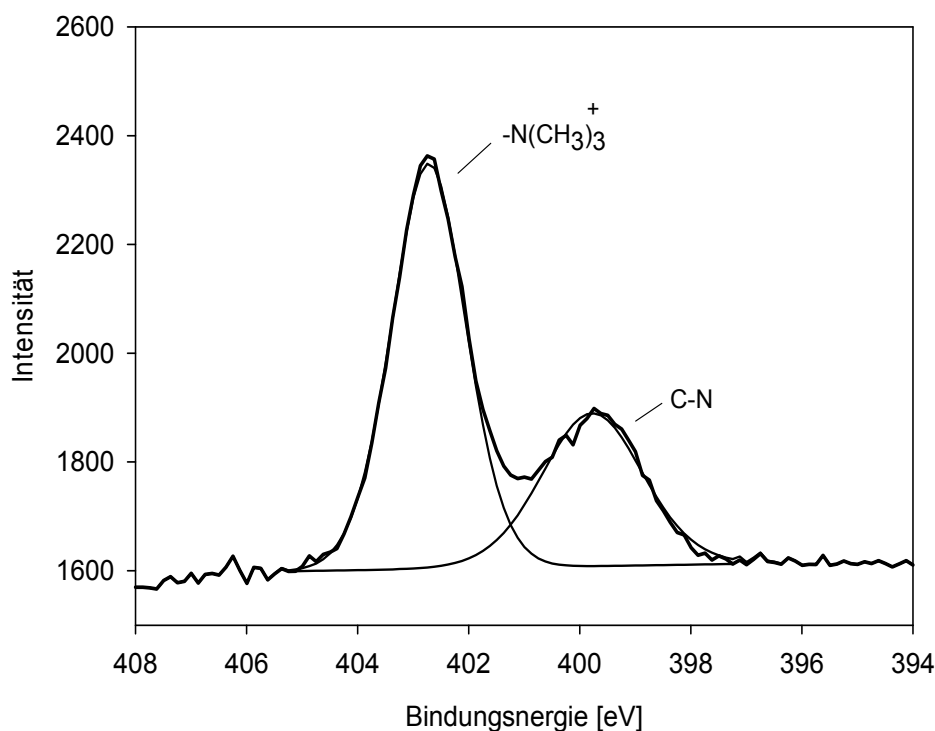


Abbildung 5.7: Hochaufgelöstes N 1s Spektrum der Beschichtung des Copolymers 1b: Signal bei 400,2 eV entspricht einer einfachen Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung, eine Verschiebung zu 402,6 eV ist charakteristisch für eine quartäre Stickstoffverbindung.

Die Originalkurve im Spektrum entspricht dabei 100 % des Stickstoffanteils. Durch Fitten der Kurve werden die Anteile der beiden Spezies bestimmt, was dem Quartärnisierungsgrad gleichkommt. Somit ergeben sich aus den XPS Messungen Quartärnisierungsgrade von 66 % für das Copolymer 1b und 65 % für Copolymer 1c (siehe Tabelle 5.5). Ein Vergleich mit den mittels ^1H -NMR bestimmten Quartärnisierungsgraden zeigt leicht abweichende Ergebnisse. Vergleichbare Abweichungen zwischen den Daten für die Alkylierung aus XPS und der ^1H -NMR-Spektroskopie wurden auch bei PFAFFENROTH beobachtet.^[47] Vor allem bei Copolymeren mit einem geringen Anteil des zu alkylierten Comonomers führten die Ergebnisse aus den XPS Untersuchungen im Vergleich zu den theoretischen Werten zu starken Abweichungen.

Tabelle 5.5: Bestimmung des Quartärnisierungsgrades des Copolymers 1b und 1c in Substanz mittels $^1\text{H-NMR}$ und als Polymerfilm angebunden an Titan über XPS Messungen.

Beschichtung	Quartärnisierungsgrad [%]	
	XPS	$^1\text{H-NMR}$
Copolymer 1b	66	86
Copolymer 1c	65	80

Durch die geringe Konzentration an Stickstoffatomen im Polymer kann es durchaus sein, dass mittels der oberflächensensitiven Methode der Stickstoffanteil unterbestimmt wird. Aufgrund des schwächeren Signals wird eine Interpretation erschwert. Bei den hier untersuchten Beschichtungen handelt es sich um Zusammensetzungen mit geringem Anteil an DMAEMA und somit Stickstoffatomen. Daher kann die Bestimmung aus den XPS Untersuchungen einen größeren Fehler aufweisen, so dass die Ergebnisse im Vergleich zu den Daten aus der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie abweichen.

Ergebnisse zu Poly(DMMEP)

Die XPS Messung der Beschichtung mit dem Homopolymer Poly(DMMEP) zeigt neben den erwarteten Elementen wie Kohlenstoff, Sauerstoff und Phosphor auch Titan und Silizium. Die Atomkonzentrationen sind in Tabelle 5.6 dargestellt. Das Silizium mit 2,1 % scheint als Kontamination auf die Oberfläche gelangt zu sein. Der geringe Anteil an Titan mit 0,3 % spiegelt die Dicke des Polymerfilms wider, die mit 7 nm für das Homopolymer höher ist als bei den Copolymeren 1b und 1c (3 bis 5 nm). Dementsprechend sollte der Anteil der Oxidschicht an der Zusammensetzung, die mittels XPS ermittelt wurde, gering ausfallen.

Tabelle 5.6: Daten zur elementaren Zusammensetzung aus XPS Messungen von mit Poly(DMMEP) beschichteten Proben sowie korrigierte und theoretisch berechneten Werte.

Beschichtung	Atomkonzentration [%]				
	C 1s	O 1s	P 2p	Ti 2p	Si 2p
Poly(DMMEP) (XPS)	$58,3 \pm 0,1$	$31,2 \pm 0,3$	$8,3 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0$	$2,1 \pm 0,2$
Poly(DMMEP) (ohne TiO_2)	59,9	31,5	8,5		
Poly(DMMEP) (theo.)	57,1	35,7	7,1		

Insgesamt stimmen die Ergebnisse sehr gut mit den theoretischen Werten überein und bestärken die erfolgreiche Anbindung des Homopolymers Poly(DMMEP).

Ob die Daten aus den hochaufgelösten Spektren (C 1s und O 1s) einen Hinweis auf einen möglichen Anbindungsmechanismus liefern, soll anhand einer Zuordnung der Signale

beurteilt werden. In Abbildung 5.8 ist die Struktur eines Monomerbausteins von Poly(DMMEP) dargestellt sowie die Anbindung über eine bzw. zwei P-O-Ti-Bindungen an die Titan(oxid)schicht. Die Zuordnung ergibt die Signale A bis C für Kohlenstoffbindungen und die Signale a bis c für Sauerstoffbindungen im Polymer. Bei der Ausbildung einer bzw. zweier P-O-Ti-Bindung in einem Monomerbaustein würde der Anteil für die Estergruppen (Signal B und b) abnehmen und gleichzeitig der Anteil für die P-O-Ti-Bindung (Signal c) ansteigen.

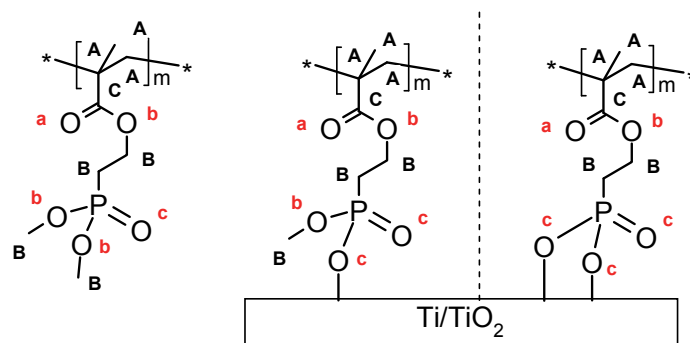


Abbildung 5.8: Darstellung des reinen Poly(DMMEP) sowie ein Modell zur Anbindung an Titan über eine bzw. zwei P-O-Ti-Bindungen: Signale A (285 eV), B (286,5 eV) und C (289 eV) im C 1s Spektrum; Signale a, c (532, 2 eV) und b (534,1 eV) im O 1s Spektrum.

Eine Berechnung der einzelnen Signalanteile für das Modell in Abbildung 5.8 scheint nicht sinnvoll zu sein. Zur Ermittlung der theoretischen Werte werden nur die Signale der funktionellen Gruppe des Monomers betrachtet. Das Polymer besteht aber aus einer langen Kette der einzelnen Monomerbausteine. Bei der Anbindung eines Polymerknäuels an die Oberfläche muss angenommen werden, dass nicht über alle vorhandenen Phosphonatestergruppen an Titan angebunden wird. Die Schichtdicke von etwa 7 nm deutet darauf hin, dass die Immobilisierung des Polymers über einzelne Phosphonatestergruppen entlang der Polymerkette stattfindet. Eine Anbindung über eine größere Anzahl an oberflächenaktiven Gruppen sollte vielmehr in dickeren Polymerfilmen resultieren. Außerdem können sich einzelne Teile im Polymerknäuel zur Oberfläche hin orientieren, so dass sie aufgrund der limitierten Eindringtiefe im XPS nicht detektiert werden können. Die verschiedenen Faktoren können bei der Berechnung der theoretischen Anteile nicht berücksichtigt werden. Zugleich müsste bei der Anbindung über eine oder zwei P-O-Ti-Bindungen angenommen werden, dass in jedem Monomerbaustein nur eine der beiden Bindungen vorliegt. Selbst die Ermittlung der theoretischen Werte unter Betrachtung der reinen Struktur von Poly(DMMEP) führt im C 1s Spektrum zu keiner guten Annäherung mit den gemessenen Werten (siehe Tabelle 5.7). Die Anteile für die Kohlenstoffsignale mit 57 % (285 eV) und 32 % (286,5 eV) weichen stark von den theoretischen mit 38 % (285 eV) und

50 % (286,5 eV) ab. Lediglich das Signal bei 289 eV liefert mit 11 % eine gute Übereinstimmung mit dem berechneten Wert von 13 %. Die gemessenen Werte aus den O 1s Spektrum kommen hingegen den theoretischen Anteilen gleich. Der Wert mit 39 % (532,2 eV) bzw. 59 % (534,1 eV) entspricht dem theoretischen von 40 % (532,2 eV) bzw. 60 % (534,1 eV). Eine Zuordnung der Signale im O 1s Spektrum scheint durch die Titan(oxid)schicht nicht erschwert zu sein. Der geringe Anteil von 2,2 % (530 eV) deutet auf eine sehr dünne Titan(oxid)schicht hin, die somit den Anteil im Sauerstoff kaum ausmacht.

Tabelle 5.7: Daten der verschiedenen Signale im C 1s und O 1s Spektrum aus den XPS Messungen der Beschichtung mit Poly(DMMEP) sowie berechnete Werte für das reine Poly(DMMEP).

Beschichtung	C 1s [%]			TiO ₂ 530 eV	O 1s [%]	
	A 285 eV	B 286,5 eV	C 289 eV		a, c 532,2 eV	b 534,1 eV
Poly(DMMEP) (XPS)	56,7	31,9	11,3	2,2	39,2	58,6
Poly(DMMEP) (theo.)	37,5	50,0	12,5		40	60

Bei den Signalen aus dem O 1s Spektrum führt die Annahme der Struktur unter Erhalt der beiden Estergruppen zu einer guten Übereinstimmung. So kann angenommen werden, dass nicht über alle vorhandenen Phosphonatestergruppen an Titan angebunden wird. Diese Annahme müsste sich aber in einer guten Übereinstimmung des Signals B im C 1s Spektrum bei 286,5 eV widerspiegeln, welches charakteristisch für die C-O-Bindung ist. In Tabelle 5.7 ist aber zu erkennen, dass der Wert mit 32 % deutlich vom theoretischen mit 50 % abweicht. Eine Diskussion in Bezug auf die Anbindung anhand der Daten aus den hochaufgelösten Spektren wird deshalb nicht weiter geführt. Die Ergebnisse aus den XPS Messungen lassen keine konkrete Aussage über den genauen Anbindungsmechanismus der phosphonathaltigen Polymere zu. Insgesamt liefern die Resultate für die Elementzusammensetzung der Substratoberfläche aber einen weiteren Hinweis auf eine erfolgreiche Anbindung der Polymere auf Titan(oxid).

Die im folgenden Unterkapitel dargestellten Untersuchungen am AFM sollen mehr Aufschluss über die Homogenität sowie Verteilung der Polymerfilme auf Titan liefern.

5.1.3 Ergebnisse der AFM Untersuchungen

Es wurden zwei verschiedene Zusammensetzungen des Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) mit 38 mol% (Polymer 1f) und 70 mol% DMMEP (Polymer 1c) auf Titanoberflächen aufgebracht und mittels AFM analysiert. Das Höhenprofil des Copolymers 1c mit einem

Bildausschnitt von $10 \times 10 \mu\text{m}$ ist in Abbildung 5.9 dargestellt und erlaubt anhand einer Farbabstufung eine qualitative Differenzierung der verschiedenen Höhen im Bereich von 0 bis 50 nm. Auffällig sind dabei zwei Profilebenen an der Oberfläche. Die untere Ebene besteht aus großflächigen Regionen mit einer Höhe von 12 bis 30 nm im Verhältnis zur Umgebung. Auf dieser befinden sich halbkugelartige Partikel mit einer maximalen Höhe von 50 nm über die ganze Fläche verteilt und bilden somit eine zweite Ebene. Die Beschichtung 1f mit weniger Phosphonatgruppen liefert eine vergleichbare Abbildung der Oberfläche (siehe Anhang 10.2). Eine dreidimensionale Darstellung eines $2 \times 2 \mu\text{m}$ Ausschnitts zeigt die hügelartigen Strukturen an der Oberfläche noch deutlicher (siehe Abbildung 5.10). Diese Darstellung entspricht der Aufnahme in Abbildung 5.11 A mit einer Verteilung von halbkugelartigen Strukturen, die im Vergleich zur Umgebung zum Teil 40 nm hoch sind.

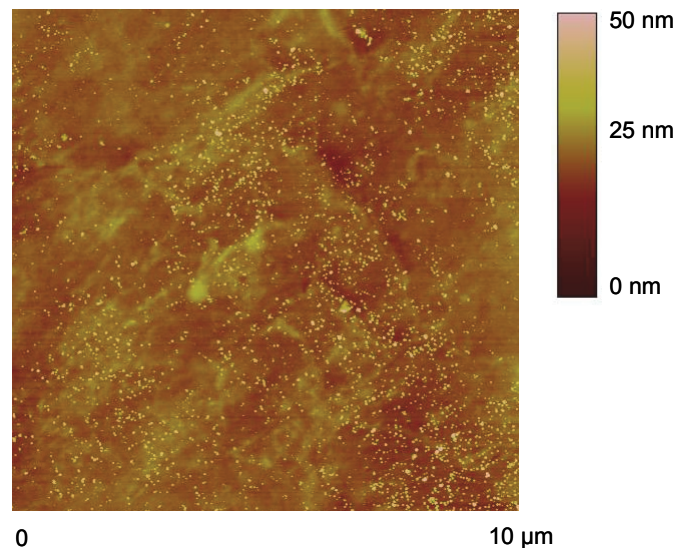


Abbildung 5.9: AFM Höhenprofil der Copolymerbeschichtung 1c (70 mol% DMMEP) mit einem Bildausschnitt von $10 \times 10 \mu\text{m}$.

Die Anbindung über oberflächenaktive Phosphonatestergruppen an Substratoberflächen wird über eine kovalente Bindung zwischen den funktionellen Gruppen und der Titan(oxid)schicht beschrieben.^[58] Dabei wird die Bildung einer Monoschicht aus Polymerknäuel angenommen. Die Topographie der hier untersuchten Oberflächen deutet darauf, dass die Polymerknäule sich in bestimmten Regionen verstärkt anlagern und gleichzeitig auch Bereiche mit sehr dünner Bedeckung vorliegen. Diese bevorzugte Anordnung der Polymerketten auf der Titanoberfläche resultiert schließlich in einer Bildung solcher inselartigen Strukturen. Diese Annahme stimmt gut mit den ellipsometrisch bestimmten Werten für die Schichtdicke überein. Die Bildung dünner Polymerfilme von wenigen Nanometern liegt im unteren Bereich der angenommenen Knäueldimension, so dass eine inhomogene Verteilung der Polymerketten

auf der Oberfläche nicht ausgeschlossen werden kann. Bei der Anbindung von Monoschichten aus Alkanphosphonsäuren, sowohl auf Titan als auch auf Siliziumoxidsubstraten, wurden bereits ähnliche Anordnungen mittels AFM beobachtet.^[57, 63] Die Vergleichbarkeit mit vorherigen Untersuchungen lässt schlussfolgern, dass die Ausbildung solcher inselartiger Strukturen charakteristisch für eine Anbindung über oberflächenaktive Phosphonatgruppen bzw. deren Ester zu sein scheint.

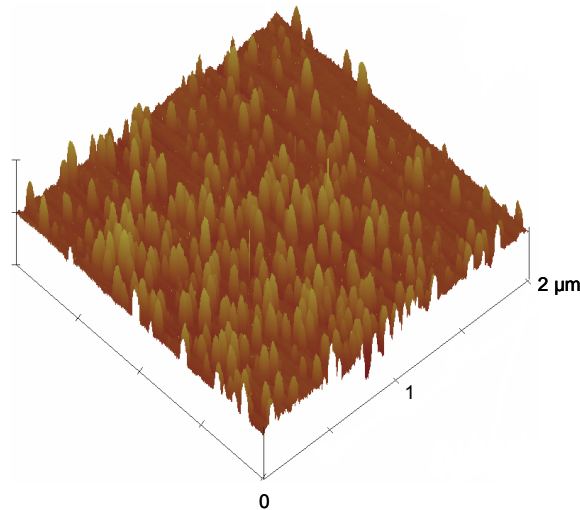


Abbildung 5.10: AFM Höhenprofil der Copolymerbeschichtung 1f in dreidimensionaler Darstellung eines 2x2 μm Ausschnitts.

In Abbildung 5.11 A bis C sind Höhenprofile von Beschichtungen verschiedener Schichtdicken mit einem Bildausschnitt von 2x2 μm dargestellt. Ein Vergleich der Höhenprofile A und B zeigt deutlich eine qualitativ unterschiedliche Verteilung der halbkugelartigen Strukturen. Eine Beschichtung mit Copolymer 1f liefert eine Schichtdicke von $5,0 \pm 0,4$ nm (Aufnahme A) bzw. $3,9 \pm 0,3$ nm (Aufnahme B) mit einer geringen Varianz in ihrer Filmdicke. Die in Abbildung 5.11 C untersuchte Probe des Copolymers 1c mit einer höheren Schichtdicke von $8,4 \pm 2,2$ nm zeigt verhältnismäßig wenig halbkugelartige Strukturen. Dagegen weist die untere Profilebene einzelne Bereiche mit Höhen bis zu 40 nm Höhe auf, die als gelbe Flächen entsprechend der Farbskala beobachtet werden.

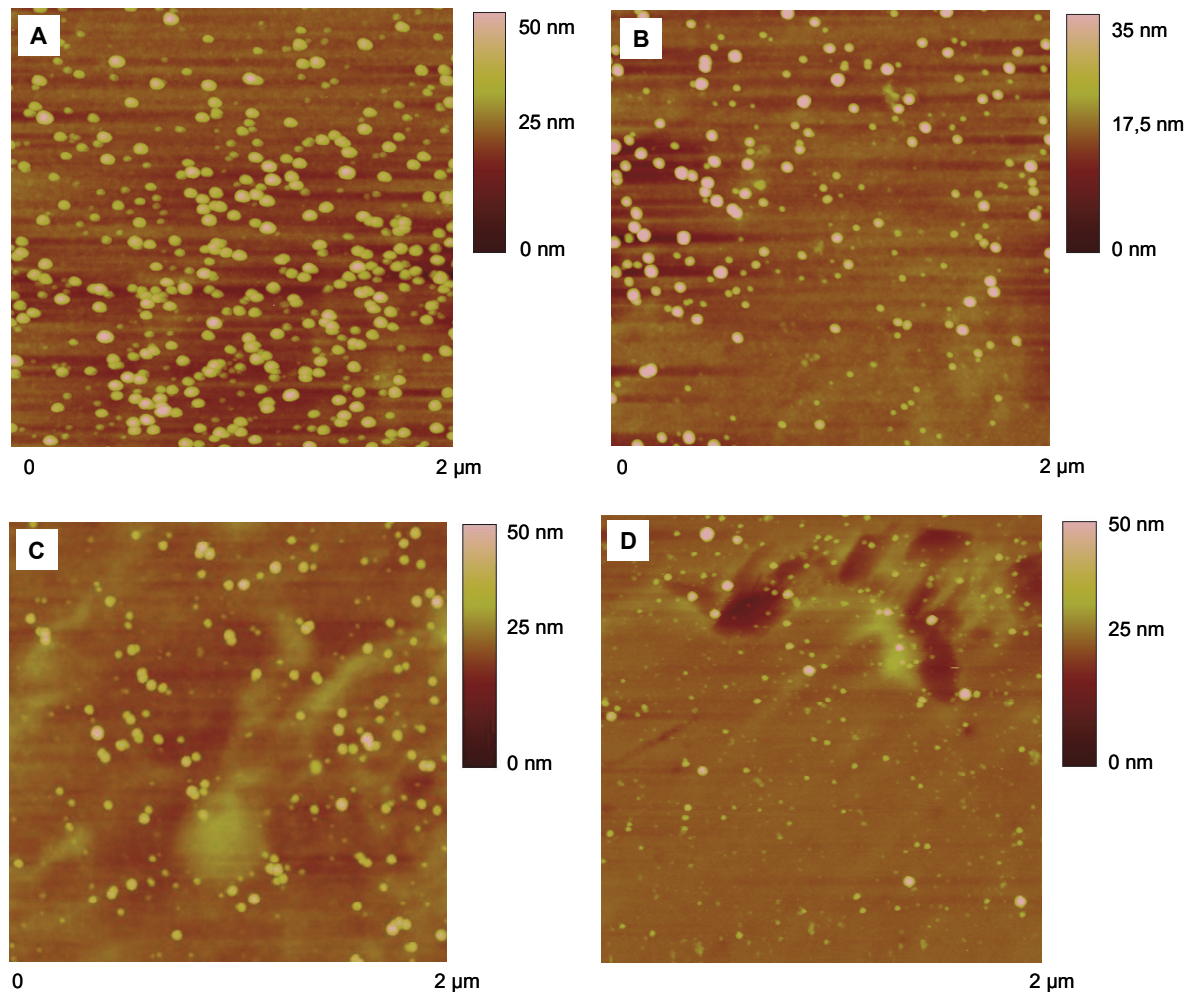


Abbildung 5.11: AFM Höhenprofile eines Bildausschnitts von $2 \times 2 \mu\text{m}$ von beschichteten Proben A bis C und reinem Titansubstrat D: A und B beschichtet mit Copolymer 1f und C beschichtet mit 1c.

Da die jeweiligen Ausschnitte nur einen Teilbereich der Oberfläche abbilden, dienen die AFM Untersuchungen einer qualitativen Analyse, um anhand der Topographie Aussagen über die Verteilung der Polymerfilme auf Titan zu treffen. Die Affinität der Phosphonatgruppen zur Oberfläche bewirkt eine eher willkürliche Verteilung, so dass Regionen unterschiedlicher Benetzbarkeit nach der Anbindung beobachtet werden. Aus den Höhenprofilen ist es daher schwierig festzustellen, ob eine erhöhte Filmdicke der angebundenen Polymerketten in einer Zunahme der Anzahl an halbkugelartigen Strukturen resultiert.

Bei Betrachtung der Aufnahme des reinen Titansubstrats in Abbildung 5.11 D ist jedoch ein deutlicher Unterschied in der Topographie zu erkennen. Die untere Profilebene der unbeschichteten Probe deutet entsprechend der Farbabstufung auf eine recht homogene Fläche. Auffällig ist der obere Bereich der Aufnahme mit einer kraterähnlichen Struktur, die womöglich durch die Vorbehandlung der Substrate durch Schleif- und Polierprozesse bedingt ist.^[48] Einzelne Erhöhungen von teilweise 50 nm sind zwar auf der reinen Titanoberfläche abgebildet, können aber durchaus Ursache von Verunreinigungen sein. Insgesamt lassen die

Ergebnisse der AFM Untersuchungen auf eine eher inhomogene Verteilung der Polymere schließen, liefern aber vergleichbare Strukturen wie sie bereits bei der Anbindung von ähnlichen Systemen beobachtet wurden.^[63, 115]

Bei Betrachtung der Schichtdicke würde eine Verteilung des Polymers unter Bildung inselartiger Strukturen mit teilweise Höhen von 40 nm in dickeren Filmen resultieren. Die ellipsometrisch bestimmten Schichtdicken der am AFM untersuchten Proben liegen im Bereich von 4 bis 8 nm. Die hier eingesetzte Analysemethode deckt allerdings nur einen Messbereich von 1x1 mm ab. Die AFM Messungen hingegen befinden sich mit Bildauflösungen im Mikrometerbereich. Mittels des Laserstrahls am Ellipsometer wird die gesamte Probenoberfläche abgerastert und anhand eines Schichtenmodells ein Mittelwert für die Schichtdicke berechnet. Die Ergebnisse mit Filmdicken im Bereich von wenigen Nanometern lassen sich damit erklären, dass über Bereiche mit viel angebundenem Polymer, aber auch über Regionen mit kaum vorhandenen Polymer, gemessen wird und folglich im Mittel dünne Schichtdicken resultieren. Zusammenfassend lassen die Resultate der AFM Messungen auf eine erfolgreiche Anbindung der phosphonathaltigen Copolymere von Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) auf Titanoberflächen schließen.

5.2 Anbindung über primäre Amingruppen

Neben den phosphonathaltigen Copolymeren wurden auch Copolymere mit primären Aminogruppen hergestellt, über die es zu einer Bindung an das Titan kommen soll. Die Verwendung von Aminen als funktionelle Gruppen zur Anbindung an Titanoberflächen stellt einen neuen Ansatz dar. Lediglich IONOV et al. verwendeten Aminoethylmethacrylathydrochlorid (AEMA) in einem Copolymer mit Polyethylenglykol (PEG), um an Siliziumoxid anzubinden.^[37] Durch vorherige Reinigung der Oberfläche mit Piranhalösung wurde diese aktiviert und das Copolymer als dünne Schicht mit maximaler Filmdicke von 3,5 nm erhalten. Anhand von Messungen des Zetapotentials zur Bestimmung der Ladung wurde ein Anbindungsmechanismus über elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den positiv geladenen Aminogruppen und der negativ geladenen Metalloxydoberfläche postuliert.

Inwieweit eine Anbindung über primäre Amine an Titan möglich ist und welcher Anbindungsmechanismus im Vergleich zu den Phosphonaten zugrunde liegt, soll zunächst anhand von Beschichtungstests mit dem Homopolymer Poly(AEMA) betrachtet werden. Anschließend soll getestet werden, ob eine Anbindung der aminhaltigen Copolymere auf Titanoberflächen in stabilen Polymerfilmen resultiert. Ziel ist es, neben den phosphonathaltigen Polymerfilmen auch die Beschichtungen des aminhaltigen Copolymers

als mögliche kontaktbakterizide Polymere auf ihre Wirksamkeit und Biokompatibilität zu untersuchen (siehe Kapitel 6).

Im Folgenden werden die Resultate der Untersuchungen zur Beschichtung von Poly(AEMA) beschrieben. Anhand von Messungen der Schichtdicke und Kontaktwinkel soll analysiert werden, ob eine Anbindung des primären Amins an Titan erfolgt. Zusätzlich werden XPS Messungen durchgeführt, die Informationen über die quantitative Zusammensetzung der Oberfläche liefern. Die Homogenität der Beschichtung wird anhand von AFM Höhenprofilen diskutiert.

5.2.1 Ergebnisse zur Anbindung von Poly(AEMA)

Die Immobilisierung des Homopolymers wurde über vier Methoden realisiert, indem das Poly(AEMA) aus methanolischer und wässriger Lösung sowohl über Spin-Coating als auch Dip-Coating auf Titansubstrate aufgebracht wurde. Als Dip-Coating wird die Beschichtung in einem Schüttler durch Einlegen des Titanplättchens in die Polymerlösung in einem Gefäß (für 24 Stunden) bezeichnet. Die beschichteten Substrate werden anschließend für 24, 48 und 72 Stunden im Trockenschrank bei 120 °C getempert. Um nicht angebundenes Polymer zu entfernen, werden die Titanplättchen sowohl mit Methanol als auch Millipore-H₂O mehrmals im Ultraschallbad gewaschen. Beim Dip-Coating findet eine Adsorption der Polymere aus der Lösung auf die Substratoberfläche heraus statt. Ist die Wechselwirkung der Polymere mit der Oberfläche stärker als die mit dem Lösungsmittel, kommt es zu einer Anhaftung der Polymerketten. Beim Spin-Coating Prozess hingegen wird eine relativ dicke Schicht auf die Substratoberfläche aufgebracht. Die Schichtdicke hängt dabei von dem verwendeten Lösungsmittel und der Konzentration der Lösung ab. Während des Schleuderns verdampft das Lösungsmittel und liegt in der Schicht nicht mehr vor. Durch das anschließende Tempern können die Polymerketten, die im Vergleich zum Dip-Coating in deutlich höherer Konzentration vorliegen, an die Substratoberfläche anbinden. Reste von nicht angebundenem Polymer werden durch Waschen im Ultraschallbad entfernt. Nach dem Spin-Coating kann es durchaus sein, dass Nebenreaktionen wie z.B. Vernetzungsreaktionen im Film stattfinden.

Die unterschiedlichen Auswirkungen auf die resultierenden Schichtdicken werden durch einen Vergleich der Beschichtungsmethoden in Abbildung 5.12 deutlich.⁴ Es ist zu erkennen, dass durch das Dip-Coating geringere Schichtdicken erzielt werden. Die Schichtdicken befinden sich im Bereich weniger Nanometer. Bei den Polymerfilmen nach dem Spin-Coating

⁴ Beschichtungsversuche im Rahmen eines Forschungspraktikums durchgeführt von Christian Tolle, TU Braunschweig

werden dagegen deutlich höhere Schichtdicken gemessen. Die Beschichtung aus wässriger Lösung bildet Filmdicken um ca. 40 nm aus, die Beschichtung aus methanolischer Lösung liefert nochmals höhere Schichtdicken um etwa 70 nm (bei 24 h).

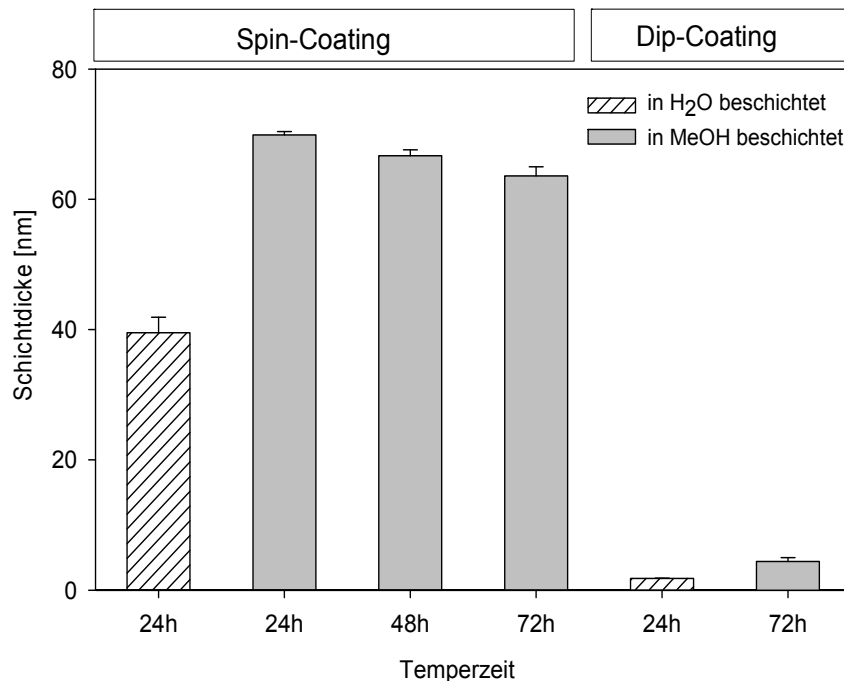


Abbildung 5.12: Schichtdicke von Poly(AEMA) nach dem Spin- und Dip-Coating in Abhängigkeit der Temperaturzeit und unterschiedlichen Lösungsmitteln: gestrichelte Balken (H₂O) oder graue Balken (MeOH).

Die Unterschiede zwischen den Filmdicken in Abhängigkeit des verwendeten Lösungsmittels sind aufgrund der geringen Datenlage beim Dip-Coating nicht festzustellen. Zumal sind bei den dünnen Schichtdicken bis maximal 10 nm keine deutlichen Änderungen der Werte erkennbar. Die signifikanten Unterschiede zwischen den Schichtdicken in Abhängigkeit der verwendeten Beschichtungsmethode lassen schlussfolgern, dass die Affinität von Poly(AEMA) zur Oberfläche während des Dip-Coating Prozesses weniger stark ausgeprägt ist. Aufgrund geringer Wechselwirkungen kommt es nur zur Ausbildung sehr dünner Polymerfilme. Wie zu erwarten führt das Aufbringen dickerer Schichten beim Spin-Coating zur Bildung von Polymerfilmen mit höheren Filmdicken. Die Unterschiede in den Werten zwischen den Lösungsmitteln lassen sich damit erklären, dass das leichterflüchtige Methanol während des Spin-Coating Prozesses besser verdampft. Dadurch wird das Lösungsmittel aus der Schicht schnell entfernt und die Anbindung der Polymerketten an die Substratoberfläche begünstigt. Insgesamt deuten die Ergebnisse der Schichtdicke auf eine erfolgreiche Immobilisierung von Poly(AEMA) auf Titan bzw. Titan(oxid)schicht über Spin-Coating hin. Ein Vergleich mit der Anbindung des phosphonathaltigen Homopolymers Poly(DMMEP) zeigt, dass die Polymerfilme von Poly(AEMA) mit Dicken von 40 bis 70 nm 10fach so hohe

Schichten ausbilden. Eine Anbindung über oberflächenaktive Amingruppen im Poly(AEMA) sollte vergleichbar mit Poly(DMMEP) in einer Monoschicht aus einzelnen Polymerknäueln resultieren. Dabei würden unter Abschätzung der Knäueldimension Filmdicken weniger Nanometer bis maximal 10 nm ausgebildet werden^[139, 144] Die hohen Schichtdicken von Poly(AEMA) lassen vielmehr vermuten, dass es im Polymerfilm zu einer Nebenreaktion gekommen ist. Durch Vernetzungsreaktionen zwischen den Polymerketten kann es zur Ausbildung mehrerer Schichten kommen, was gleichzeitig die hohen Filmdicken erklären würde.^[140]

Ein erster Hinweis für solche Nebenreaktionen sollte durch die Variation der Temperzeit untersucht werden. Wie bereits beschrieben soll der Tempervorgang im Anschluss an die Immobilisierung der Polymere eine Anhaftung der in Kontakt mit der Oberfläche stehenden Polymerketten verstärken.^[57] Es wird erwartet, dass die Erhöhung der Temperzeit eine Zunahme der Schichtdicke bewirkt, indem eine mögliche Vernetzungsreaktion oder intramolekulare Umlagerung der Polymerketten gefördert wird. Die Ergebnisse in Abbildung 5.12 zeigen keine eindeutige Abhängigkeit zwischen der Schichtdicke und der Temperzeit. Beim Dip-Coating liegen zwei verschiedene Messreihen vor, die sich in der Wahl des Lösungsmittels unterscheiden. Daher wird ein direkter Vergleich zwischen den beiden Messreihen erschwert. Dennoch deuten die Werte auf eine leichte Zunahme der ellipsometrisch bestimmten Filmdicken bei einer erhöhten Temperzeit von 72 Stunden hin. Dieser Anstieg der Werte ist möglicherweise ein Artefakt, hervorgerufen durch die etwas dickere Titan(oxid)schicht. Die Messreihen der Beschichtungen aus methanolischer Lösung erlauben einen Vergleich der Schichtdicken nach drei verschiedenen Temperzeiten. Die Erhöhung der Temperzeit scheint bei den mittels Spin-Coating beschichteten Proben ebenfalls keinen starken Einfluss zu haben. Die Werte zeigen eher eine leichte Abnahme der Schichtdicke von 70 nm auf ca. 64 nm nach 72 Stunden, die im Bereich des Fehlers liegt. Die hohen Schichten bereits nach 24 Stunden lassen vielmehr vermuten, dass eine mögliche Vernetzung bereits abgeschlossen ist und folglich ein längerer Temperprozess keine Schichtzunahme bewirkt. Die geringe Abnahme der Schichtdicke um 6 nm (nach 72 Stunden) könnte vermuten lassen, dass die Polymerknäule sich dichter zusammenlagern und folglich mittels Ellipsometrie leicht abweichende Schichtdicken ermittelt werden.

Bei der Erhöhung der Temperzeit muss zusätzlich ein denkbarer Einfluss auf die Ausbildung der Titan(oxid)schicht berücksichtigt werden. Es wurden Untersuchungen mit

unbeschichteten Titansubstraten durchgeführt.⁵ Die Titanplättchen wurden vor dem Einsatz geschliffen, frisch poliert und im Ultraschallbad gereinigt. Anschließend wurden die Proben am Ellipsometer gemessen und der Brechungsindex der unbeschichteten Proben bestimmt. Die Substrate wurden unterschiedlich lang bei 120 °C im Trockenschrank getempert. In einem Einschichtmodell wurden die Daten der unbehandelten Substrate eingesetzt und die Dicke der Titan(oxid)schicht ermittelt. Die Ergebnisse für die Schichtdicke sind in Abbildung 5.13 in Abhängigkeit von der Temperzeit dargestellt. Die höchsten Titan(oxid)schichten bilden sich nach 48 Stunden mit 2,8 nm bzw. nach 120 Stunden mit 2,9 nm. Eine Abhängigkeit von der Temperzeit wird nicht beobachtet. Die höchsten Werte liegen im Bereich von 3 nm und weisen auf eine sehr dünne Oxidschicht hin.

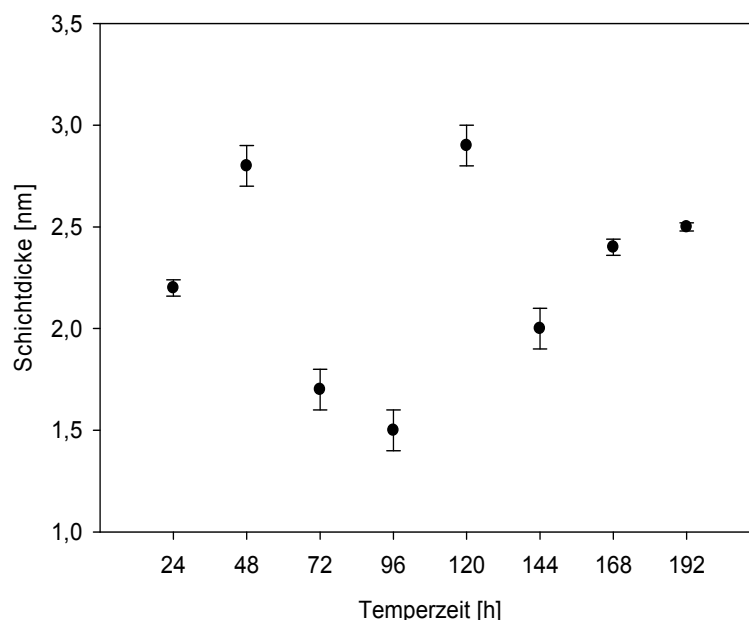


Abbildung 5.13: Schichtdicke der unbeschichteten Titansubstrate nach verschiedenen Temperzeiten.

Die Werte für die Kontaktwinkel in Abbildung 5.14 zeigen eine Abnahme des vorderen Kontaktwinkels von $\theta_{\text{adv}} = 50^\circ$ (nach 72 Stunden) auf $\theta_{\text{adv}} = 41^\circ$ (nach 192 Stunden) bzw. des hinteren von $\theta_{\text{rec}} = 38^\circ$ auf $\theta_{\text{rec}} = 31^\circ$. Die ansteigende Hydrophilie könnte durch die Zunahme der Titan(oxid)schicht bedingt sein.

Die Untersuchungen bestätigen eine spontane Bildung der Oxidschicht wie sie in der Literatur bereits diskutiert wird.^[55] Eine Abhängigkeit zwischen Dicke der Oxidschicht und Temperzeit kann jedoch anhand der hier vorgenommen Tests nicht bestätigt werden. Insgesamt sollte bei der Beschichtung die Bildung einer Titan(oxid)schicht nicht außer Acht gelassen werden. Um

⁵ durchgeführt im Rahmen eines Forschungspraktikums von Christian Tolle, TU Braunschweig

den Einfluss jedoch gering zu halten, wird der Beschichtungsprozess für alle Proben unter gleichen Bedingungen durchgeführt, indem die unbeschichteten Titansubstrate nach der Messung am Ellipsometer am selben Tag beschichtet werden.

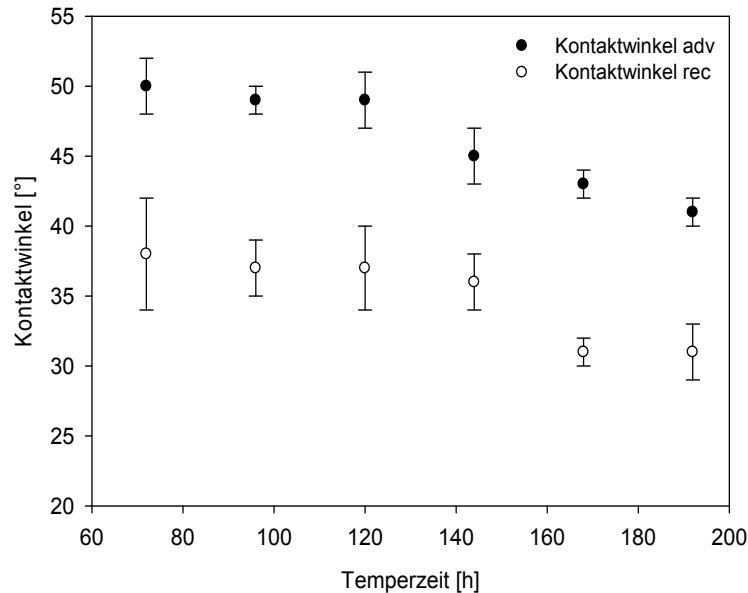


Abbildung 5.14: Vorderer (adv) und hinterer (rec) Kontaktwinkel der mit Poly(AEMA) beschichteten Substrate in Abhängigkeit der Temperaturzeit.

Um ein besseres Verständnis über das Anbindungsverhalten von Poly(AEMA) zu erlangen, werden Arbeiten von THOMPSON et al. herangezogen, die sich mit der chemischen Degradation des Homopolymers beschäftigt haben.^[128] Es wurden mögliche Mechanismen für das unter alkalischen Bedingungen deprotonierte Amin beschrieben, die in Abbildung 5.15 dargestellt sind. Durch eine intramolekulare Amidation kann es zur Bildung von 2-Hydroxyethylmethacrylamid (Reaktion A) kommen. Umlagerungen unter Abspaltung von Aminoethanol sind durch intramolekulare Reaktion B zwischen dem primären Amin und der benachbarten Carboxylgruppe sowie intermolekular C zwischen zwei primären Aminbausteinen entlang der Kette möglich.

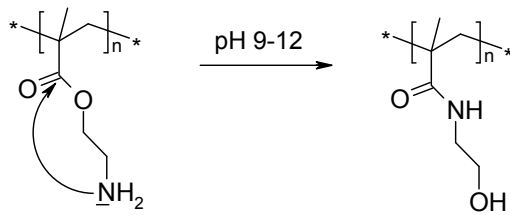
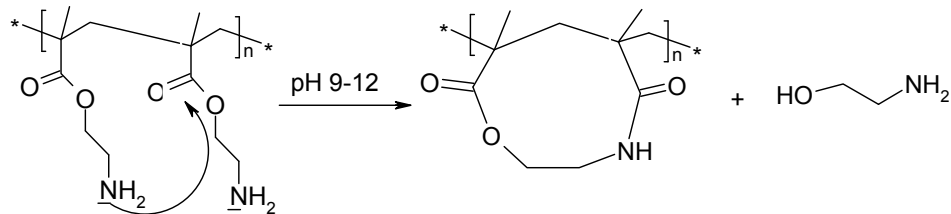
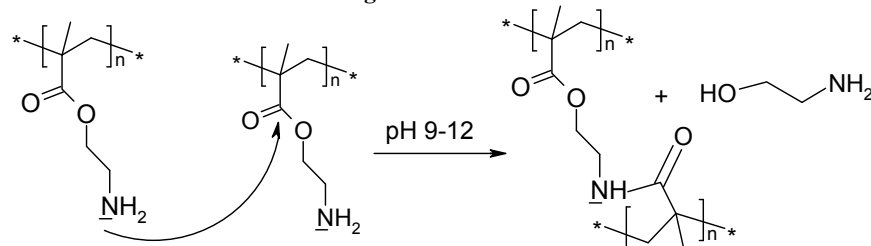
A Intramolekulare Amidation zu 2-Hydroxyethylmethacrylamid**B Intramolekulare Reaktion****C Intermolekulare Reaktion/Vernetzung**

Abbildung 5.15: Mögliche Mechanismen für die Degradation von Poly(AEMA) in alkalischer Lösung: A Intramolekulare Amidation zu 2-Hydroxyethylmethacrylamid, B Intramolekulare Reaktion und C Intermolekulare Reaktion/Vernetzung unter Abspaltung von Aminoethanol in Anlehnung an THOMSON.^[128]

Da mögliche Reaktionen von Poly(AEMA) im alkalischen Bereich (pH 9 bis 12) beschrieben werden, ist für die Untersuchungen auch nur die Beschichtung im alkalischen von Interesse. Bei den Beschichtungsversuchen wird das Polymer in einem Gemisch aus Methanol/Wasser bei pH 9,5, 10 und 11 gelöst und sowohl über Dip-Coating (72 Stunden) als auch Spin-Coating auf Titanoberflächen aufgebracht und bei 120 °C im Trockenschrank für 24 Stunden getempert. In Abbildung 5.16 sind die gemessenen Schichtdicken der Beschichtungen bei verschiedenen pH-Werten dargestellt.⁶ Die Ergebnisse zeigen, dass auch bei diesem Beschichtungsversuchen deutliche Unterschiede zwischen den beiden Beschichtungsmethoden festzustellen sind. Ein Zusammenhang zwischen pH-Wert und Schichtdicke kann dabei nicht beobachtet werden. Die Immobilisierung mittels Dip-Coating resultiert in sehr dünnen Schichten im Bereich von 2 bis 2,5 nm unabhängig vom pH-Wert. Die Resultate zeigen, dass über Dip-Coating nur sehr dünne Polymerfilme von Poly(AEMA) erhalten werden und stimmen mit den Ergebnissen in Abbildung 5.12 gut überein.

⁶ durchgeführt im Rahmen eines Forschungspraktikums von Christian Tolle, TU Braunschweig

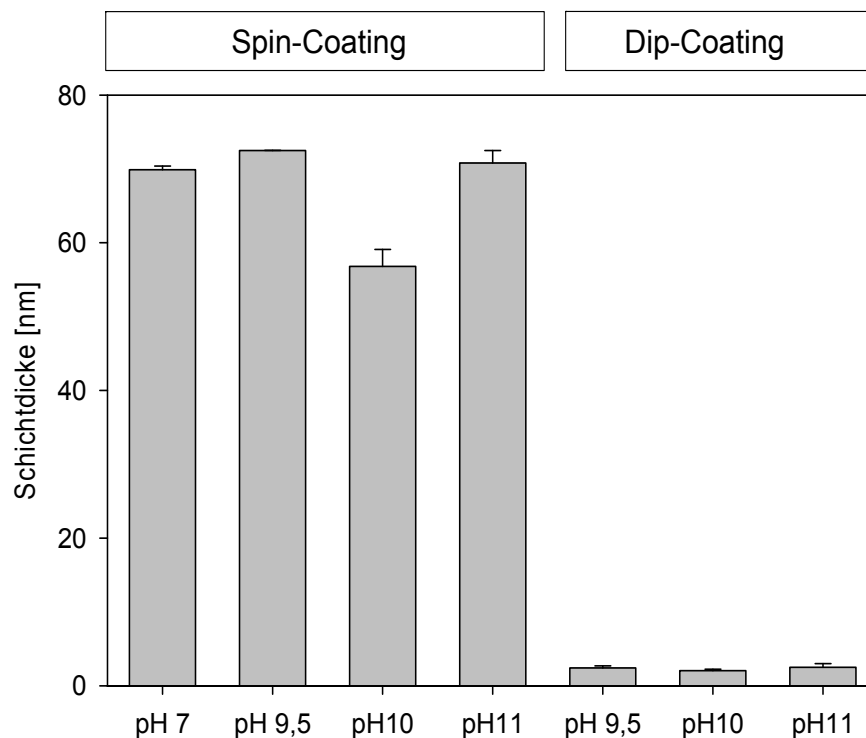


Abbildung 5.16: Schichtdicken von Poly(AEMA) beschichtet mittels Spin- und Dip-Coating aus Polymerlösung verschiedener pH-Werte im Methanol/Wasser-Gemisch.

Die über Spin-Coating hergestellten Polymerfilme mit Schichtdicken von 57 bis 73 nm liefern vergleichbare Werte, wie die Beschichtungen aus neutraler Lösung (pH 7), so dass kein Einfluss des pH-Wertes auf die Schichtdicke beobachtet wird. Lediglich die bei pH 10 beschichteten Substrate weisen etwas dünnere Filme mit ca. 57 nm auf. Bei hohen Schichten kann es durchaus zu Schwankungen in der Filmdicke kommen, so dass die etwas dünneren Polymerfilme um 57 nm eher auf den Beschichtungsprozess zurückzuführen sind und weniger als Einfluss durch den pH-Wert. Insgesamt kann anhand dieser Untersuchungen keine Abhängigkeit des pH-Wertes der Polymerlösung auf die Schichtdicke der daraus gebildeten Polymerfilme festgestellt werden. Es lässt vermuten, dass bei dem Anbindungsmechanismus des Amins an die Titan(oxid)schicht eine intramolekulare Umlagerung weniger bedeutsam ist, sondern vielmehr die Vernetzung durch intermolekulare Reaktion die Ausbildung hoher Filmdicken begünstigt. Werden bei der Beschichtung leicht saure Bedingungen gewählt, sollten protonierte Amingruppen vorliegen.^[125] Dabei könnten die protonierten Amingruppen an die Titan(oxid)schicht über elektrostatische Wechselwirkung anbinden, die unter sauren Bedingungen eine negative Oberfläche besitzt.^[74] Dieser Aspekt wurde im Rahmen der Arbeit nicht verfolgt. Der Fokus lag vielmehr auf dem Verhalten von Poly(AEMA) unter basischen Bedingungen, um darüber Aussagen über mögliche Nebenreaktionen im Film zu machen.

5.2.2 Ergebnisse zu XPS Untersuchungen von Poly(AEMA)

Die Untersuchungen mittels XPS für die mit Poly(AEMA) beschichteten Substrate liefern einen Nachweis für die Elemente Kohlenstoff, Sauerstoff und Stickstoff (siehe Abbildung 5.17). Aufgrund der hohen Schichtdicke von durchschnittlich $52,2 \pm 4,0$ nm wird wie erwartet kein Titan detektiert.

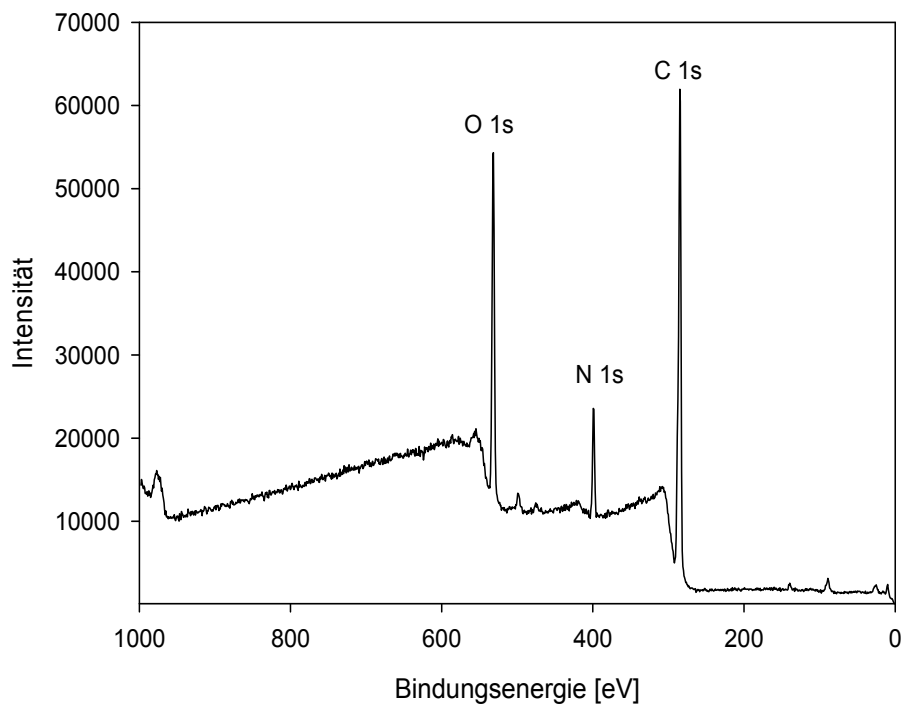


Abbildung 5.17: Übersichtsspektrum der XPS Messungen von beschichteten Proben mit Poly(AEMA) mit den detektierten Elementen Sauerstoff, Stickstoff und Kohlenstoff.

Anhand der XPS Untersuchungen soll die Anbindung von Poly(AEMA) an die Titan(oxid)schicht näher diskutiert werden. Ausgehend von den ellipsometrisch bestimmten Schichtdicken wird angenommen, dass mögliche Reaktionen im Film zur Ausbildung solcher dicker Schichten führen. Es werden unterschiedliche Strukturen betrachtet, die gemäß den Reaktionen in Abbildung 5.15 gebildet werden können. Den funktionellen Gruppen in den jeweiligen Strukturen können aufgrund unterschiedlicher Bindungsenergien charakteristische Signalen zugeordnet werden. Aus den hochaufgelösten Spektren der XPS Untersuchungen ergeben sich für C 1s die Signale A bis D und für O 1s die Signale a bis c (siehe Abbildung 5.18).

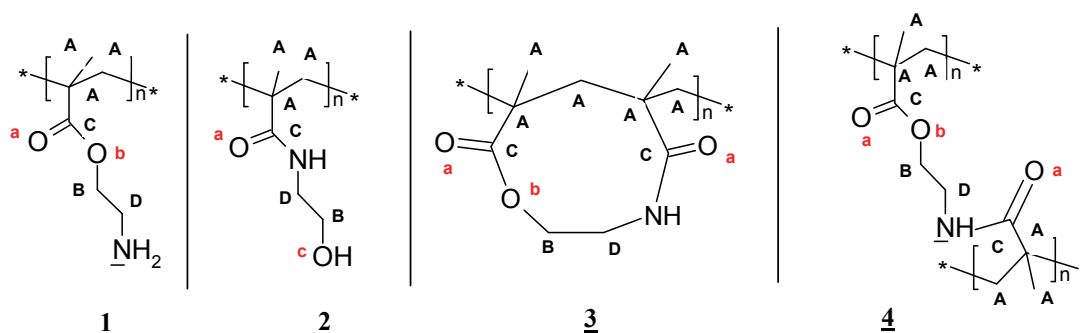


Abbildung 5.18: Darstellung der Struktur von Poly(AEMA) 1 sowie mögliche Reaktionen in Anlehnung an THOMSON^[128] unter Bildung von Strukturen 2 bis 4: Zuordnung der Signale im XPS für das C 1s Spektrum (A bis D) und das O 1s (a bis c).

Es können für die Strukturen 1 bis 4 die theoretischen Anteile für die Elemente Kohlenstoff, Sauerstoff und Stickstoff berechnet werden. In Tabelle 5.8 sind die theoretischen Werte für die vier Strukturen sowie die mittels XPS gemessenen Werte von Poly(AEMA) dargestellt.

Tabelle 5.8: Daten der XPS Messungen von Poly(AEMA) sowie theoretische Werte unter der Annahme verschiedener Strukturen aus Abbildung 5.18.

Beschichtung	Atomkonzentration [%]		
	C 1s	O 1s	N 1s
Poly(AEMA) (XPS)	75,8 ± 0,7	16,9 ± 0,5	7,4 ± 0,2
Struktur <u>1</u> (theo.)	66,7	22,2	11,1
Struktur <u>2</u> (theo.)	66,7	22,2	11,1
Struktur <u>3</u> (theo.)	71,4	21,4	7,1
Struktur <u>4</u> (theo.)	71,4	21,4	7,1

Die Struktur von Poly(AEMA) 1 mit den theoretischen Werten von 67 % (C 1s), 22 % (O 1s) und 11 % (N 1s) zeigt eine gute Annäherung zu den gemessenen Werten von 76 % (C 1s), 17 % (O 1s) und 7 % (N 1s). Eine Differenzierung zu 2-Hydroxyethylmethacrylamid 2 ist anhand der Atomkonzentrationen nicht möglich. Gleichzeitig kann zwischen der Struktur 3 und 4 ebenfalls nicht differenziert werden. Um aus den Atomkonzentrationen dennoch Rückschlüsse auf eine mögliche Struktur zu treffen, wird das Sauerstoff zu Stickstoff Verhältnis betrachtet. Für die Strukturen 1 und 2 resultiert ein Verhältnis von 2:1, wohingegen die Strukturen 3 und 4 ein Verhältnis von 3:1 vorweisen. Ausgehend von möglichen Vernetzungsreaktionen können einige Gruppen innerhalb der Polymerkette im Poly(AEMA) 1 zu Struktur 4 reagieren. Dabei würde eine Erhöhung des Verhältnisses an Sauerstoff zu Stickstoff erwartet werden. Aus den gemessenen Werten ergibt sich ein Verhältnis von 2,3:1. Dieser Wert liefert einen ersten Hinweis darauf, dass bevorzugt Struktur 1 bzw. 2 vorliegt. Eine Differenzierung zwischen Struktur 1 und 2 ist nicht möglich.

Ausgehend von dem eingesetzten Polymer wird überwiegend Struktur **1** erwartet. Das Verhältnis von 2,3:1 deutet zugleich darauf, dass ein geringer Anteil an Struktur **4** vorliegen kann. Die ellipsometrisch bestimmten Schichtdicken lassen eher auf Vernetzungsreaktionen schließen, so dass Umlagerungsreaktionen zu Struktur **3** weniger erwartet werden. Neben den Atomkonzentrationen für die Elemente können aus den hochaufgelösten Spektren zusätzlich die Anteile für die jeweiligen funktionellen Gruppen ermittelt werden. Die gemessenen Werte aus dem C 1s Spektrum für die Signale A bis D sowie die theoretisch bestimmten Werte sind in Tabelle 5.9 dargestellt. Die berechneten Werte zeigen auch hierbei, dass anhand der Daten aus den C 1s Spektrum eine Differenzierung zwischen den Strukturen **1** und **2** bzw. **3** und **4** schwierig ist.

Tabelle 5.9: Daten des hochaufgelösten C 1s Spektrum von Poly(AEMA) sowie theoretische Werte unter der Annahme verschiedener Strukturen in Abbildung 5.18.

Beschichtung	C 1s [%]		
	A	B, D	C
	285 eV	286,5 eV	289 eV
Poly(AEMA) (XPS)	56,2	29,6	14,2
Struktur 1 (theo.)	50,0	33,3	16,7
Struktur 2 (theo.)	50,0	33,3	16,7
Struktur 3 (theo.)	60,0	20,0	20,0
Struktur 4 (theo.)	60,0	20,0	20,0

Die Strukturen unterscheiden sich insgesamt im Gehalt an Alkylkohlenstoff benachbart zu Sauerstoff oder Stickstoff. Zwischen einer Carboxylgruppe und einer Amidbindung kann innerhalb des C 1s Spektrums nur schwer differenziert werden. Die Carboxylgruppe (Signal B in Abbildung 5.18) besitzt eine Bindungsenergie von 286 eV, die Amidbindung (Signal D in Abbildung 5.18) weist dagegen nur eine geringe Verschiebung zu 286,5 eV auf. Die gemessenen Werte für die Beschichtung von Poly(AEMA) mit 56 % (285 eV), 30 % (286,5 eV) und 14 % (289 eV) liegen tendenziell zwischen den theoretischen Werten für die angenommenen Strukturen. Somit scheint die Berechnung der theoretischen Werte der überwiegend erwarteten Strukturen **1** und **4** eine gute Annäherung zu den gemessenen Werten aus den XPS Untersuchungen zu sein. Aus den Daten des hochaufgelösten C 1s Spektrums ist eine eindeutige Zuordnung zu einer Struktur jedoch nicht möglich. Es kann durchaus sein, dass Nebenreaktionen zur Bildung von verschiedenen Strukturen führen und somit eine konkrete Aussage aus den XPS Messungen erschwert wird. Die Daten aus dem hochaufgelösten O 1s Spektrum lassen ebenfalls keine Rückschlüsse anhand der Anteile für

die charakteristischen Signale a bis c in Abbildung 5.18 zu. Die Ergebnisse werden hier nicht näher diskutiert. Schlussfolgernd stimmen die Ergebnisse mit der zu erwarteten Struktur von Poly(AEMA) 1 gut überein. Zusätzlich lassen die Resultate Vernetzungsreaktionen unter der Annahme der Struktur 4 vermuten.

Der Frage nach einer möglichen Anbindung über elektrostatische Wechselwirkungen zwischen dem positiven Amin und der negativ geladenen Titan(oxid)schicht kann anhand der Ergebnisse aus dem hochaufgelösten N 1s Spektrum nachgegangen werden. Das Spektrum in Abbildung 5.19 zeigt ein Signal bei 399,6 eV, was einer N-C-Bindung entspricht. Ein charakteristischer Peak für das positiv geladene Stickstoffatom sollte bei 401,5 eV^[125] liegen, der nicht gemessen wurde. Gleichzeitig konnte das Gegenion Chlorid nicht detektiert werden, was aber auch auf eine erschwerte Quantifizierung, wie bei der Bestimmung der Bromidionen der phosphonathaltigen Copolymere diskutiert wurde, zurückzuführen sein könnte (siehe Kapitel 5.1.2, Seite 77).

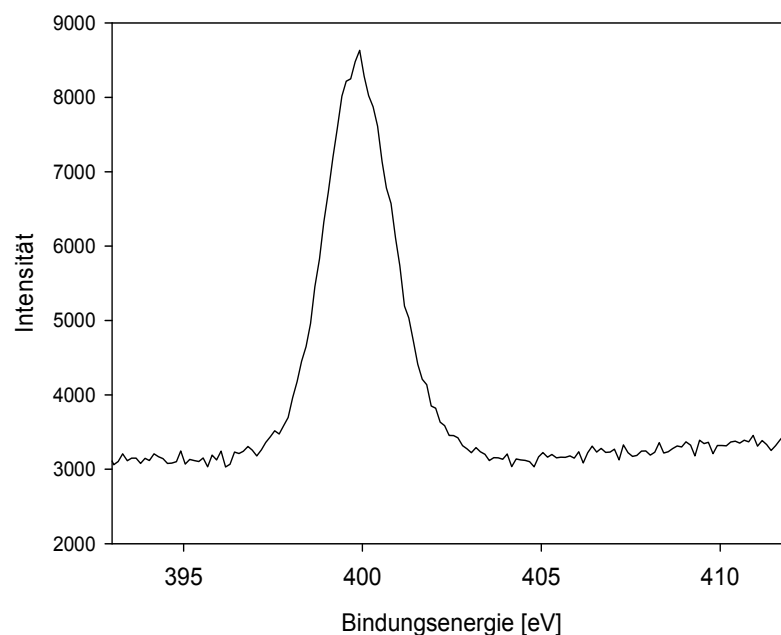


Abbildung 5.19: Hochaufgelöstes N 1s Spektrum mit einem charakteristischen Signal bei 399,6 eV für eine einfache N-C-Bindung.

Die Ergebnisse aus dem N 1s Spektrum zeigen keine Anzeichen für positiv geladene Aminogruppen im Poly(AEMA). Bei den hier untersuchten Polymerfilmen handelt es sich um Schichtdicken von durchschnittlich 52 nm. Bei den XPS Messungen liegt die Eindringtiefe des Röntgenstrahls bei ca. 10 nm. Somit kann zunächst angenommen werden, dass die Amingruppen direkt an der Titan(oxid)schicht nicht detektiert werden können. Die XPS Messungen geben keinen Hinweis darauf, dass die Anbindung über protonierte

Aminogruppen und entsprechende elektrostatische Wechselwirkungen erfolgt. Allerdings ist aufgrund der limitierten Eindringtiefe der Methode der Anbindungsmechanismus auch nicht vollständig auszuschließen. Insgesamt liefern die Ergebnisse einen Nachweis für die erfolgreiche Anbindung von Poly(AEMA) auf die Titan(oxid)oberfläche und bekräftigen die Annahme, dass Vernetzungsreaktionen im Film zur Bildung von hohen Schichtdicken führen.

5.2.3 Ergebnisse der AFM Untersuchungen von Poly(AEMA)

Es wurden Untersuchungen am AFM durchgeführt, um Aussagen über die Homogenität der Beschichtung mit Poly(AEMA) treffen zu können. In Abbildung 5.20 ist das Höhenprofil mit einem Bildausschnitt von 10x10 μm dargestellt.

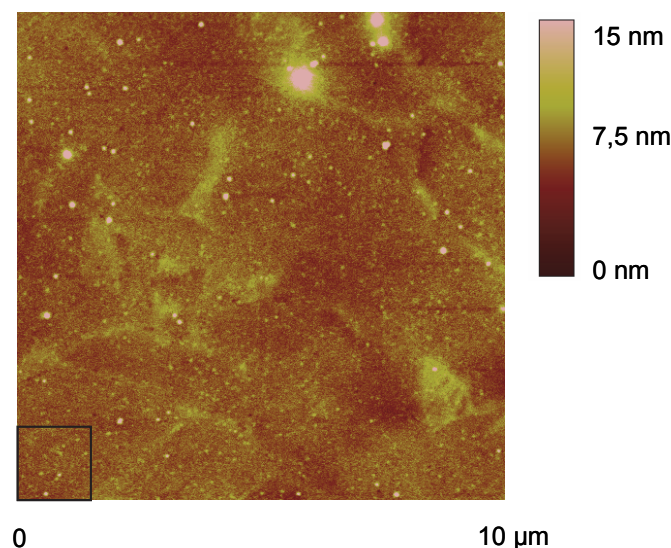


Abbildung 5.20: AFM Höhenprofil der Beschichtung Poly(AEMA) auf Titan mit einem Bildausschnitt von 10x10 μm : Das eingezeichnete Quadrat verdeutlicht die Größe des Bildausschnitts in Abbildung 5.21.

Die Oberfläche zeigt vorwiegend großflächige Bereiche mit ca. 10 nm Höhe sowie vereinzelte Regionen mit 15 nm Höhe im Vergleich zur Umgebung. Diese Erhöhungen, wie bereits bei den phosphonathaltigen Copolymeren Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) diskutiert (siehe Kapitel 5.1.3), entstehen vermutlich durch eine Anhäufung der Polymerknäule. Insgesamt wird die Oberfläche des Poly(AEMA) weniger stark von halbkugelförmigen Strukturen geprägt, was vielmehr auf eine recht homogene Verteilung des Polymers deutet. Eine Vergrößerung des Bildausschnittes auf 1,5x1,5 μm in Abbildung 5.21 deutet auf eine flechtenartige Struktur hin und unterscheidet sich deutlich von der inselartigen Verteilung wie sie bei der Anbindung über Phosphonatgruppen beobachtet wurde.^[48, 115] Die Unterschiede in der Topographie lassen vermuten, dass die Anbindung über Aminogruppen in einer

homogeneren Anordnung resultiert und womöglich ein etwas anderer Anbindungsmechanismus zugrunde liegt. Die Ausbildung flechtenartiger Strukturen könnte durch Vernetzungsreaktionen zwischen den Polymerketten entstehen.

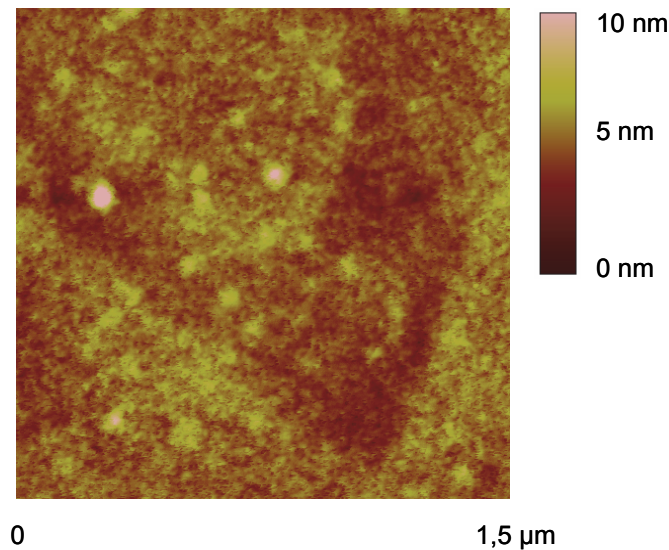


Abbildung 5.21: AFM Höhenprofil der Beschichtung von Poly(AEMA) mit einem vergrößerten Ausschnitt von 1,5x1,5 µm: Bildgröße in Abbildung 5.19 durch ein Quadrat gekennzeichnet.

Bei der Beschichtung mit Poly(AEMA) wurde bereits beobachtet, dass mittels Spin-Coating dickere Polymerfilme ausgebildet werden. Die ellipsometrisch bestimmten Schichtdicken liegen im Bereich von 40 bis 70 nm, wohingegen nach dem Dip-Coating Filmdicken weniger Nanometer entstehen. Es wurde angenommen, dass im Spin-Coatingfilm zusätzlich Reaktionen stattfinden. In der Literatur konnte ein Einfluss der Beschichtungsmethode auf die Ausbildung von Polymerfilmen beobachtet werden. Es wurden amphiphile Polymere von 2-(Dimethylamino)ethylmethacrylat auf Siliziumdioxid aufgebracht und Unterschiede zwischen Spin-Coating und der Beschichtung durch Adsorption und Verdampfen der Lösung mittels AFM festgestellt.^[145] Die Topographie der Beschichtung nach dem Spin-Coating Prozess zeigte eine rauere Oberfläche mit einer recht bergigen Verteilung, wohingegen nach der Adsorption ein dünner, fein verteilter Film gebildet wurde. Diese Untersuchungen bekräftigen die Annahme, dass der Spin-Coating Prozess einen starken Einfluss auf die Verteilung der Polymerknäule hat. Dabei kann es durch zusätzliche Vernetzungsreaktionen zur Ausbildung dicker Polymerfilme kommen. Zusammenfassend stimmen die Resultate der ellipsometrisch bestimmten hohen Schichtdicken und die AFM Höhenprofile mit einer homogenen Verteilung von Poly(AEMA) gut überein, so dass auf eine erfolgreiche Bildung stabiler Polymerfilme über primäre Amine geschlossen werden kann.

5.2.4 Ergebnisse zur Anbindung der Copolymere

Inwieweit die Anbindung der aminhaltigen Copolymere Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) in stabilen Polymerfilmen resultiert, soll anhand von Messungen der Schichtdicke und Kontaktwinkel sowie an AFM Höhenprofilen untersucht werden. Es wurden die Beschichtungen von Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) mit 74 mol% AEMA (Polymer 4h) bzw. 39 mol% (Polymer 4k) ausgewählt. Die Zusammensetzung 4h soll einem Vergleich mit hohem Anteil an DMMEP im Copolymer Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) dienen. Polymer 4k wurde hingegen eingesetzt, um eine Beschichtung mit der geringsten Konzentration an AEMA herzustellen und einen möglichen Einfluss der Zusammensetzung auf die Schichtdicke zu untersuchen. Es wurden vier Experimente zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt. Innerhalb eines Experiments wurden mehrere Titansubstrate mit den Polymeren 4h und 4k beschichtet, die als eine Versuchsreihe bezeichnet werden. Die verschiedenen Versuchsreihen werden unter Betrachtung von Schichtdicke und Kontaktwinkel in Tabelle 5.10 gegenüber gestellt.

Tabelle 5.10: Daten zu Schichtdicke und Kontaktwinkel von Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) aus vier Experimenten, die zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt wurden.

Polymer	Anteil an AEMA [mol%] ¹	Schichtdicke [nm]	Kontaktwinkel [°]	
			adv	rec
Poly(AEMA-co- <i>hexyl</i> /DMAEMA)				
1.Versuchsreihe				
4h	74	36,4 ± 1,2	64 ± 1	44 ± 1
4k	39	39,1 ± 0,3	62 ± 1	58 ± 2
2.Versuchsreihe				
4h	74	62,9 ± 8,7	63 ± 2	51 ± 1
4k	39	65,7 ± 2,3	61 ± 1	48 ± 2
3.Versuchsreihe				
4h	74	58,5 ± 3,3	62 ± 1	48 ± 2
4k	39	65,9 ± 2,6	62 ± 1	51 ± 1
4.Versuchsreihe				
4g	85	59,4 ± 2,3	67 ± 1	43 ± 1
4h	74	62,5 ± 0,1	68 ± 0	56 ± 1
4i	61	64,3 ± 1,7	68 ± 0	57 ± 2
4j	52	69,5 ± 2,3	62 ± 1	47 ± 1
4k	39	68,9 ± 2,9	68 ± 1	58 ± 2

¹ Anteil an AEMA im Copolymer mittels ¹H-NMR bestimmt

Zwischen der ersten Versuchsreihe und den anderen Versuchsreihen ist ein deutlicher Unterschied zwischen den Schichtdicken zu erkennen. Die Versuchsreihe liefert für die Schichtdicke Werte um 36 nm (4h) und 39 nm (4k). Bei den anderen drei Versuchsreihen wurden Werte für die Schichtdicke mit leichten Schwankungen im Bereich von 59 bis 63 nm (4h) bzw. 66 bis 69 nm (4k) erhalten. Die Werte für die Filmdicke innerhalb der Versuchsreihe unterscheiden sich kaum, die geringe Standardabweichung von 0,3 nm (4k) und 1,2 nm (4h) liegt im Bereich des Messfehlers. Daher lässt sich der deutliche Unterschied zu den anderen Versuchsreihen eher auf den Präparationsprozess zurückführen.

Die Schichtdicken der verschiedenen Zusammensetzungen von Poly(AEMA-co-*hexyl*DMAEMA) liegen im Bereich von 59 bis 70 nm und sind im Vergleich zu den phosphonathaltigen Poly(DMMEP-co-*hexyl*DMAEMA) (75 mol% DMMEP) mit 4,5 nm und 3,5 nm (38 mol% DMMEP) um etwa das 8fache höher (siehe Tabelle 5.1, Seite 67). Zusätzlich zeigt sich eine tendenzielle Abnahme der Schichtdicke mit zunehmenden Anteil an AEMA im Copolymer von ca. 69 nm (39 mol%) auf 59 nm (85 mol%).

Bei einer Anbindung wie bei den phosphonathaltigen Copolymeren sollte eine Zunahme der Konzentration an oberflächenaktiven Gruppen einen Anstieg der Schichtdicke bewirken. Da die aminhaltigen Copolymere sehr dicke Polymerfilme ausbilden, liegt auch hier die Vermutung nahe, dass Vernetzungsreaktionen im Film stattfinden. Die Schichtdicken für die Copolymerfilme liegen im Bereich der Schichten von Poly(AEMA), so dass für die Anbindung der Copolymere derselbe Mechanismus zugrunde liegen muss. Daher wird auch keine Abhängigkeit zwischen der Zusammensetzung der aminhaltigen Copolymere und der Schichtdicke der Polymerfilme erwartet.

In den Arbeiten von IONOV et al. wird eine Abnahme der Schichtdicke mit zunehmendem Anteil an AEMA in einem Copolymer aus Polyethylenglykol beschrieben und dabei eine mögliche Abstoßung aufgrund gegenseitiger Wechselwirkungen der Polymerknäule diskutiert.^[37] Dabei handelt es sich um Filmdicken im Bereich von ca. 3,5 nm, die auf die Ausbildung einer Monoschicht hindeuten. Dieser Mechanismus kann auf das hier untersuchte System allerdings nicht übertragen werden. Die hier entwickelten Copolymere bilden deutlich höhere Schichtdicken auf der Titan(oxid)oberfläche aus und lassen eher Vernetzungsreaktionen innerhalb der Polymerketten vermuten.

Die Resultate aus den XPS Messungen in Kapitel 5.2.2 liefern keine Hinweise auf protonierte und damit positiv geladene Aminogruppen. Demnach können auch keine Abstoßungen aufgrund von Ladungen zwischen den hier angebunden Polymerketten stattfinden. Anhand der hier vorgenommen Untersuchungen kann nicht abschließend geklärt werden, warum die

Beschichtungen mit höherem Anteil an AEMA dünnere Schichtdicken aufweisen. Insgesamt deuten die Ergebnisse eher darauf, dass bei der Anbindung der hier entwickelten aminhaltigen Copolymere an Titan ein anderer Mechanismus zugrunde liegen muss, als von IONOV et al. beschrieben.

Die Kontaktwinkel für das Copolymer liegen im Bereich von 61 bis 68° für den vorderen (adv) und 43 bis 58° für den hinteren (rec) Winkel und damit deutlich über den Werten der unbeschichteten Titansubstrate. Zwischen den Versuchsreihen in Tabelle 5.10 sind nur geringe Schwankungen in den Kontaktwinkeln zu erkennen. Ein Vergleich der Werte mit Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) lässt auf eine höhere Hydrophobie der aminhaltigen Copolymere schließen. Die Kontaktwinkel des Homopolymers Poly(AEMA) mit $\theta_{adv} = 67 \pm 2^\circ$ und $\theta_{rec} = 48 \pm 3^\circ$ sind ebenfalls deutlich höher als für das Homopolymer Poly(DMMEP) (siehe Tabelle 5.1, Seite 67). Der Einbau des primären Amins in das Copolymer bewirkt somit einen Anstieg der Hydrophobie.

Insgesamt lassen die Ergebnisse der Schichtdicke sowie Kontaktwinkel auf eine erfolgreiche Anbindung von Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) schließen. Die Anbindung über das primäre Amin führt im Copolymer zur Ausbildung von dicken und stabilen Polymerfilmen mit Schichtdicken bis 70 nm. Diese hohen Schichten beruhen wahrscheinlich auf Vernetzungsreaktionen innerhalb der Spin-Coatingfilme. Vorherige Untersuchungen haben bereits gezeigt, dass mögliche Vernetzungsreaktionen einen Anstieg der Schichtdicke bewirken können.^[140] In der Arbeit von PFAFFENROTH wurde durch Einbau von ungesättigten Gruppen das Ziel verfolgt, über diese auf der Substratoberfläche zu vernetzen, um die Schichtdicke zu erhöhen.^[47] So konnte in den phosphonathaltigen Copolymeren ein Anstieg der Filmdicke auf 38 bis 92 nm abhängig von dem Anteil an vernetzbaren Gruppen erreicht werden. Bei dem hier eingesetzten primären Amin scheinen ebenfalls Gruppen vorhanden zu sein, die zu einer Vernetzung im Film führen (siehe Struktur 4 in Abbildung 5.18). Der Einsatz von aminhaltigen Polymeren stellt eine weitere Möglichkeit dar, Copolymere mit höheren Schichten auf Titan zu realisieren.

5.2.5 Ergebnisse zu AFM Untersuchungen der Copolymere

Zur Untersuchung der Homogenität der Copolymerfilme wurden AFM Höhenprofile von Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) der Zusammensetzungen mit 74 mol% AEMA (Polymer 4h) bzw. 39 mol% (Polymer 4k) gemacht. In Abbildung 5.22 ist das Höhenprofil der mit 4h beschichteten Probe mit einem Bildausschnitt von 1,5x1,5 µm dargestellt.

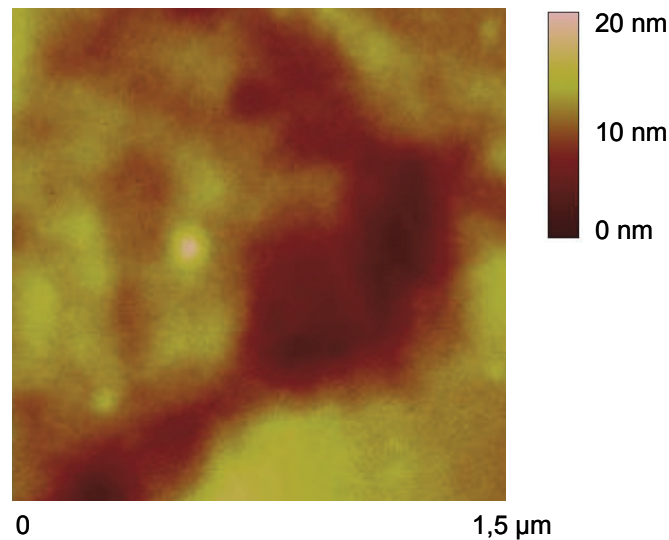


Abbildung 5.22: AFM Höhenprofil der Beschichtung mit Copolymer 4h (74 mol% AEMA) mit einem Bildausschnitt 1,5x1,5 µm.

Die Topographie der Oberfläche zeichnet sich durch zwei großflächige Regionen unter 10 nm sowie um 15 nm Höhe aus. Lediglich ein einzelner Fleck von maximal 20 nm ist zu erkennen. Die flechtenartige Struktur wie bei dem Homopolymer Poly(AEMA) (siehe Abbildung 5.21) ist bei dieser Aufnahme weniger ausgeprägt, allerdings wird keine inselartige Struktur wie bei dem phosphonathaltigen Poly(DMMEP-co-*hexy*/DMAEMA) (siehe Abbildung 5.11, Seite 84) beobachtet.

Bei der Beschichtung des Copolymers mit 39 mol% AEMA in Abbildung 5.23 lässt sich die Oberfläche als eine Art einer engmaschigen netzwerkartigen Struktur beschreiben, welche eine Höhe im Bereich von 4 bis 7 nm aufweist. Folglich zeigt das Höhenprofil eine homogene Verteilung des Copolymers 4k. Lediglich zwei Bereiche mit einer maximalen Höhe von 10 nm im Vergleich zur Umgebung lassen auf eine Anhäufung von Polymerknäueln schließen.

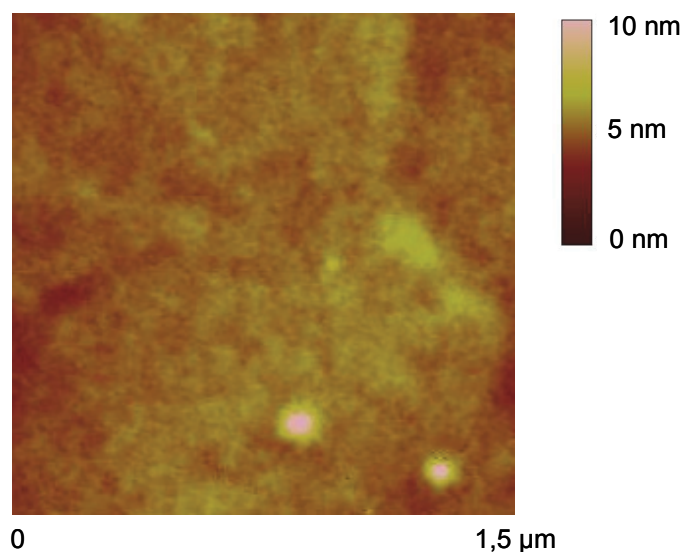


Abbildung 5.23: AFM Höhenprofil der Beschichtung mit Copolymer 4k (39 mol% AEMA) mit einem Bildausschnitt 1,5x1,5 µm.

Die AFM Untersuchungen der aminhaltigen Copolymere prägen das Bild von großflächigen Regionen mit einer flechtenähnlichen Struktur vergleichbar mit den Aufnahmen der Beschichtung von Poly(AEMA), die auf eine eng gepackte netzwerkartige Struktur deuten. Im Vergleich zu den phosphonathaltigen Polymerfilmen (siehe Kapitel 5.1.3) zeichnen sich die Beschichtungen der aminhaltigen Copolymere zusätzlich durch eine gleichmäßige Verteilung auf der Oberfläche aus.

5.3 Vergleich der beiden Anbindungsstrategien

Die Untersuchung der beiden Homopolymere Poly(DMMEP) und Poly(AEMA) zeigen deutliche Unterschiede in der Anbindung an die Titan(oxid)schicht. Die Beschichtung von Poly(DMMEP) auf Titan liefert dünne Schichten im Bereich von 7 nm, wohingegen die Beschichtung von Poly(AEMA) in 8 bis 10fach so hohen Schichten mit einer durchschnittlichen Filmdicke von 52 nm resultiert. Bei der Anbindung über oberflächenaktive Phosphonatgruppen wird die Anbindung über eine Monoschicht aus Polymerknäueln beschrieben. Dabei werden Filmdicken ausgebildet, die im Bereich der angenommenen Knäueldimension von wenigen Nanometern liegen.^[139] Das Poly(AEMA) führt hingegen zur Bildung dicker Polymerfilme, die infolge von Vernetzungsreaktionen im Film unter Ausbildung eines Netzwerkes entstehen können.

Mittels XPS Untersuchungen wurde die chemische Zusammensetzung der Beschichtung für beide Polymere auf Titan untersucht. Bei der Anbindung über Phosphonate und deren Ester wird ein Mechanismus über kovalente P-O-Ti-Bindungen postuliert.^[58, 59] Die im Rahmen der Arbeit durchgeführten XPS Untersuchungen ermöglichen allerdings keine abschließende Aussage über den Anbindungsmechanismus, da zwischen der Bildung einer oder zwei P-O-Ti-Bindungen nicht differenziert werden kann. Diese Beobachtung bestätigt die Komplexität des Systems wie sie bereits in der Literatur diskutiert wurde (siehe Kapitel 2.1). Die Anbindung über primäre Amine an Titan stellt einen neuen Ansatz dar, so dass sich ein Vergleich mit der Literatur als schwierig erweist. Die von IONOV et al.^[37] postulierte Anbindung über elektrostatische Wechselwirkung an Siliziumoxidoberflächen kann anhand der XPS Messungen nicht auf Titan übertragen werden. Die Resultate zeigen keine charakteristischen Signale eines geladenen Stickstoffatoms und deuten vielmehr auf eine deprotonierte Spezies hin. Zudem führt die Anbindung über Amine zur Ausbildung hoher Schichtdicken und unterscheidet sich deutlich von den dünnen Schichten, die von IONOV et al. beschrieben werden.

Die signifikanten Unterschiede in den Schichtdicken finden sich auch für die Beschichtungen mit den Copolymeren. Die Copolymere Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA), Poly(DMMEP-co-*methyl*/DMAEMA) und Poly(DEVP-co-*methyl*/DMAEMA) bilden dünne Polymerfilme von 2 bis 5 nm aus. Das aminhaltige Copolymer Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) führt zu Polymerfilmen mit deutlich höheren Schichten von 59 bis 70 nm. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass auch für die Copolymere eine entsprechende Anbindung bzw. Vernetzung stattfindet. Bei den phosphonathaltigen Copolymeren erfolgt die Anbindung an Titan über die oberflächenaktiven Phosphonatester. Diese Annahme wird durch eine Abhängigkeit der Schichtdicke vom Phosphonatanteil bekräftigt, so dass eine höhere Anzahl der Gruppen folglich in mehr Anbindungsstellen auf der Oberfläche resultiert.^[66, 99] Die Art der Anbindung führt zu einer inselartigen Verteilung auf der Oberfläche wie sie bereits bei vergleichbaren Systemen beobachtet wurde.^[63, 115]

Bei den aminhaltigen Copolymeren wird die Verteilung des Polymers auf der Oberfläche eher durch eine recht homogene Verteilung einer engmaschigen netzwerkartigen Struktur geprägt. Bei insgesamt sehr hohen Schichten ist es schwierig anhand geringer Unterschiede eine Abhängigkeit zwischen dem Anteil des AEMA im Copolymer und der Schichtdicke zu beurteilen. Dennoch wird eine Abnahme der Filmdicke von 69 nm mit 39 mol% AEMA auf 59 nm mit 85 mol% beobachtet. Der Unterschied von 10 nm zeigt einen gegensätzlichen Trend im Vergleich zu den phosphonathaltigen Systemen und deutet darauf hin, dass ein ansteigender Anteil der Amingruppen im AEMA eher zu einer Abnahme der Schichtdicke führt. Es kann nur vermutet werden, dass durch einen ansteigenden AEMA-Anteil mehr Vernetzungspunkte vorliegen und somit ein dichter gepacktes Netzwerk entsteht. Dies könnte erklären, warum mit ansteigendem AEMA-Gehalt die Schichtdicke abnimmt und würde zugleich ein weiteres Indiz für Vernetzungsreaktionen sein.

Die Unterschiede sowohl in den Schichtdicken als auch in den Höhenprofilen aus den AFM Untersuchungen bekräftigen, dass beide Strategien sich in ihrer Anbindungsart unterscheiden. Die hohen Schichten und die charakteristischen Strukturen auf der Oberfläche lassen vermuten, dass es durch Vernetzungsreaktionen innerhalb der aminhaltigen Polymerfilme zu einer Bildung eines Netzwerkes kommt. Um eine abschließende Aussage über einen genauen Anbindungsmechanismus der aminhaltigen Polymere auf Titan(oxid) zu treffen, bedarf es zusätzlicher analytischer Methoden, die im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich waren. Anhand der hier durchgeführten Untersuchungen konnte jedoch gezeigt werden, dass eine erfolgreiche Anbindung über das AEMA im Copolymer in stabilen und dicken Polymerfilmen

resultiert und einen guten Ansatz darstellt, um Polymerbeschichtungen auf Titan(oxid)schichten aufzubringen.

5.4 Zusammenfassung

Die Untersuchungen zur Anbindung der Polymere haben gezeigt, dass sowohl die Copolymere als auch Homopolymere über zwei verschiedene Anbindungsgruppen erfolgreich auf Titan(oxid)oberflächen aufgebracht werden konnten. Die Immobilisierung der phosphonathaltigen Copolymere führt zur Ausbildung dünner Schichten von wenigen Nanometern und ist vergleichbar mit den Ergebnissen ähnlicher Systeme.^[66, 139] XPS Messungen liefern zusätzlich einen quantitativen Nachweis der chemischen Elemente der Beschichtung des Copolymers Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA).

Anhand verschiedener Beschichtungstests konnte gezeigt werden, dass eine Anbindung über primäre Amine mittels Spin-Coating des Homopolymers Poly(AEMA) in sehr hohen Schichtdicken resultiert. Die Ergebnisse für entsprechende Experimente mit den aminhaltigen Copolymer Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) zeigen vergleichbare Werte. XPS Untersuchungen unterstützen die erfolgreiche Anbindung von Poly(AEMA) auf Titan(oxid). Anhand der durchgeführten AFM Untersuchungen konnte eine qualitative Aussage über die Oberfläche der Polymerfilme gemacht und Unterschiede zwischen den jeweiligen Copolymeren festgestellt werden. Dabei scheint die Anbindungsgruppe einen starken Einfluss auf die Verteilung der Polymerknäule auf der Titan(oxid)oberfläche zu haben, so dass verschiedene Strukturen beobachtet wurden. Aus den hier im Rahmen der Arbeit durchgeführten Untersuchungen kann nicht eindeutig ein Mechanismus abgeleitet werden. Die Unterschiede in der Anbindung können anhand einer schematischen Darstellung in Abbildung 5.24 näher beschrieben werden. Bei den phosphonathaltigen Copolymeren wird eine Anbindung über einzelne oberflächenaktive Gruppen entlang der Polymerkette vermutet. Die Polymerknäule verteilen sich dabei unterschiedlich stark auf der Oberfläche, was die Bildung inselartigen Strukturen erklären würde. Es kommt zur Bildung dünner Polymerfilme weniger Nanometer ohne Nebenreaktionen im Film (siehe Abbildung 5.24 links). Bei den aminhaltigen Polymeren wird aufgrund der deutlich höheren Schichtdicken angenommen, dass es zu Vernetzungsreaktionen zwischen den Polymerketten kommt. Über Vernetzungspunkte zwischen den Polymerknäueln bilden sich dickere Schichten, die als eine Art Netzwerk beschrieben werden können. Eine Anbindung mit Vernetzung würde die hohen Filmdicken erklären und gleichzeitig auch in einer recht homogenen Verteilung auf der Oberfläche resultieren (siehe Abbildung 5.24 rechts).

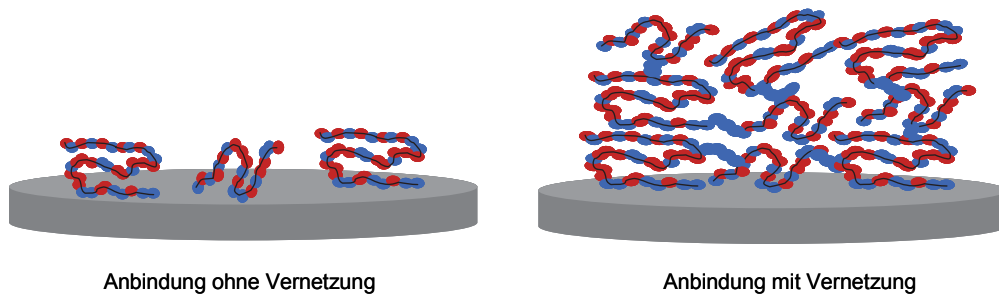


Abbildung 5.24: Schematische Darstellung eines Anbindungsmechanismus von oberflächenaktiven Gruppen im Polymer an die Substratoberfläche ohne Vernetzung (links) sowie mit Vernetzung zwischen den Polymerketten (rechts).

Diese Darstellung ist lediglich ein Modell, was die Unterschiede in der Anbindung zwischen den phosphonathaltigen und aminhaltigen Copolymeren auf Titan(oxid)oberflächen erklären würde. Die unterschiedlichen Mechanismen liefern in Bezug auf die Schichtdicken und die mittels AFM gemessene Topographie der Beschichtungen eine gute Annäherung.

Neben der Anbindung über Phosphonatestergruppen konnte gezeigt werden, dass der neue Ansatz über primäre Amine wie dem AEMA anzubinden, eine weitere Strategie darstellt, um Titan(oxid)oberflächen mit Polymerbeschichtungen zu modifizieren. Daher werden sowohl die phosphonathaltigen Systeme Poly(DMMEP-co-*hexy*/DMAEMA) und Poly(DMMEP-co-*methy*/DMAEMA) sowie das aminhaltige Poly(AEMA-co-*hexy*/DMAEMA) als mögliche kontaktbakterizide Polymere auf ihre antibakterielle Wirksamkeit sowie Biokompatibilität getestet (siehe Kapitel 6).

6. Antimikrobielle Wirksamkeit und Biokompatibilität

Bei den im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Copolymeren kommen die Systeme Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA), Poly(DMMEP-co-*methyl*/DMAEMA) und Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) als potenzielle kontaktbakterizide Oberflächen in Frage. Inwieweit die Beschichtungen eine bakterielle Adhäsion verhindern und gleichzeitig die Weichgewebeanlagerung zwecks optimalem Wundverschluss aufgrund biokompatibler Eigenschaften begünstigen, sollen weitergehende Untersuchungen zeigen, die in Zusammenarbeit mit der Medizinischen Hochschule in Hannover durchgeführt werden.

6.1 Untersuchungsmethoden auf antimikrobielle Wirksamkeit

Im Rahmen der antibakteriellen Untersuchungen werden die Copolymerbeschichtungen auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit unter *In-vitro*-Bedingungen getestet. Dazu werden die im orthopädischen Bereich relevanten pathogenen Keime *Staphylococcus epidermidis* und *Staphylococcus aureus* verwendet, die bei Infektionen im Implantatbereich am häufigsten auftreten.^[9, 123] Die Anlagerung der Keime wird zunächst anhand von sogenannten Screeningtests an beschichteten und unbeschichteten Titanproben (Ti6Al4V-Substrat als Implantatmaterial) untersucht. Dabei werden nur geringe Stückzahlen der jeweiligen Beschichtungen eingesetzt, die für einen generellen Überblick über die unterschiedlichen Kombinationen an funktionellen Gruppen in den Copolymeren und deren Wirksamkeiten ausreichend sind. Ausgehend von diesen Ergebnissen werden weitere Untersuchungen auf vielversprechende Oberflächen fokussiert. Dazu gehören die Quantifizierung adhärenter Bakterien sowie die Entwicklung teilbeschichteter Substratoberflächen zur verbesserten Analyse der kontaktinduzierten antimikrobiellen Wirksamkeit von Polymerbeschichtungen (siehe Kapitel 6.3).

In allen nachfolgend beschriebenen Experimenten wird die Aussaat der jeweiligen Keime mit einer definierten Zelldichte von ca. 2×10^9 cfu/ml in einem Tris-Puffer (50 mM, pH 7,5) vorgenommen, um zusätzliche Effekte durch die Ablagerung von im Kulturmedium enthaltenen Proteinen weitestgehend zu vermeiden. Da die direkte Anlagerung der Keime im Vordergrund steht, erfolgt die Kultivierung in den ersten Untersuchungen mit einer Inkubationszeit von einer Stunde bei 37 °C unter einer konstanten und gleichmäßigen Bewegung. Um eine Auswirkung der modifizierten Oberfläche auf die Bakterien auch über

diese initiale Adhäsion hinaus beurteilen zu können, werden die nachfolgenden Untersuchungen mit einer Inkubationszeit von fünf Stunden fortgesetzt. Zur Entfernung nicht-adhärenter Bakterien werden die Proben nach der Inkubation mehrmals mit Pufferlösung gewaschen. Für die weitere Analyse unter Einsatz der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie (CLSM) erfolgt eine Anfärbung der Zellen mit einer lebend/tot-Färbung mit dem Farbstoff Syto 9 und Propidiumiodid. Dadurch wird ermöglicht im Gegensatz zu anderen Färbetechniken zwischen lebenden (grün) und toten (rot) Bakterienzellen zu unterscheiden. Somit kann neben der Auswertung der Besiedlungsdichte eine Aussage über die Vitalität der Zellen getroffen werden. Syto 9 ist ein membrangängiger Nukleinsäure-interagierender Fluoreszenzfarbstoff, der in der Lage ist, DNA und RNA von allen Zellen, lebend wie tot, grün anzufärben. Propidiumiodid hingegen ist nicht membrangängig und kann somit nur in membrangeschädigte bzw. tote Zellen eindringen und rot-fluoreszierend in die DNA interkalieren. Im Anschluss an die Färbung werden überschüssige Farbstoffe von den Proben gewaschen, die Bakterien mittels 2,5 %iger Glutaraldehydlösung 30 Minuten fixiert und bis zur mikroskopischen Auswertung dunkel gelagert.

6.2 Screening potenziell kontaktbakterizider Oberflächen

Aus den bisherigen Untersuchungen von antimikrobiellen Oberflächen aus synthetischen Polymeren wurden verschiedene Zusammenhänge zwischen strukturellen Eigenschaften und der Wirksamkeit beobachtet. Bei der antibakteriellen Wirksamkeit gegenüber verschiedenen pathogenen Keimen wie *Staphylococcus epidermidis* und *Staphylococcus aureus*^[42] sowie *Escherichia coli*^[43, 90] wurde bei Polymeren aus quartären Ammoniumverbindungen ein Einfluss der Länge der Alkylkette am Stickstoffatom festgestellt. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die antibakterielle Wirkung eines Systems aus Terpolymeren gegenüber *Escherichia coli* erst durch eine bestimmte Zusammensetzung erreicht wird. Es wurde dahingehend diskutiert, dass eine bestimmte Hydrophilie im Terpolymer notwendig ist.^[94] Eine Abhängigkeit der Zusammensetzung im Copolymer wurde auch bei PFAFFENROTH et al. beschrieben. Bei dem System Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) bewirkte eine Zunahme des Anteils an DMMEP einen Anstieg der Wirksamkeit gegenüber *Streptococcus mutans*.^[47] Ausgehend von den unterschiedlichen Einflussfaktoren auf die antibakterielle Wirksamkeit werden verschiedene Wirkmechanismen, wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben, postuliert. Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Copolymersysteme eignen sich gut, um verschiedene Einflussgrößen zu untersuchen. Für die Screenings auf antibakterielle Wirksamkeit werden drei Copolymere selektiert, die sich in der Kombination ihrer beiden

Comonomere unterscheiden und in verschiedenen Zusammensetzungen zueinander hergestellt werden können. So kann anhand der in Abbildung 6.1 dargestellten Systeme untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Copolymerzusammensetzung und der Wirksamkeit besteht. Die Variation der Comonomere soll zusätzlich Aufschluss darüber geben, ob bestimmte funktionelle Gruppen für die gewünschte antibakterielle Wirkung erforderlich sind.

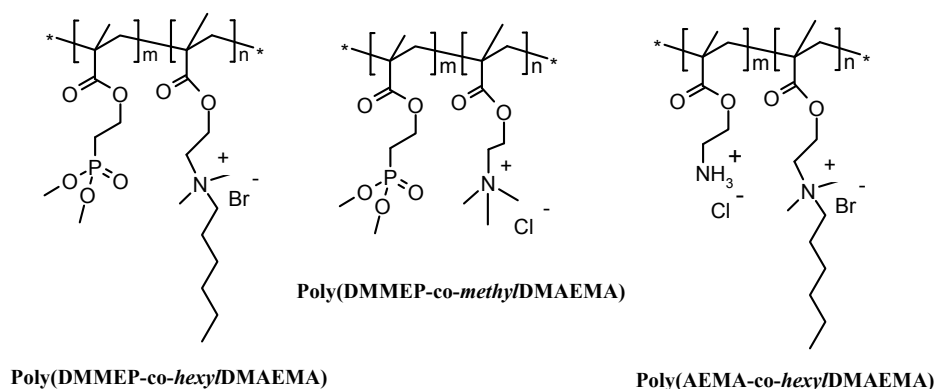


Abbildung 6.1: Übersicht der Copolymere, die als potentiell kontaktkakterizide Oberflächen auf ihre antibakterielle Wirksamkeit getestet werden.

Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) und Poly(DMMEP-co-methyl/DMAEMA) besitzen denselben Phosphonatester DMMEP und unterscheiden sich durch die Alkylgruppe am Stickstoffatom des DMAEMA. Ein Vergleich soll zeigen, ob die Länge der Alkylkette in dem hier vorliegenden Copolymersystem ebenfalls einen Einfluss auf die Wirksamkeit hat. Das Poly(AEMA-co-hexyl/DMAEMA) enthält anstatt eines Phosphonatesters ein primäres Amin, das hydrophobere AEMA. Hierbei ist von Interesse, ob die Wahl des Comonomers sowie der Unterschied in der Hydrophilie des Systems einen Effekt auf eine mögliche antibakterielle Wirkung ausüben. Daher werden auch die Homopolymere Poly(DMMEP) und Poly(AEMA) mit in die Testreihen integriert.

Ziel ist eine Aussage darüber zu treffen, welche strukturellen Merkmale entscheidend sind, um die gewünschte antibakterielle Wirksamkeit zu erhalten. Die Screenings der verschiedenen Copolymerbeschichtungen werden am pathogenen Keim *Staphylococcus epidermidis* durchgeführt. In einem ersten Screening wird eine breite Auswahl verschiedener Zusammensetzungen von Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) untersucht. Ausgehend von diesen Ergebnissen werden die Screenings von Poly(DMMEP-co-methyl/DMAEMA) und Poly(AEMA-co-hexyl/DMAEMA) auf wenige Zusammensetzungen fokussiert. Die Ergebnisse der jeweiligen Tests werden im Folgenden diskutiert.

6.2.1 Ergebnisse des Screenings von Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA)

Verschiedene Zusammensetzungen von Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) (Copolymer 1) wurden untersucht, die entsprechend der Tabelle 4.1 (auf Seite 51) mit abnehmendem Anteil an DMMEP im Copolymer als 1b, 1c sowie 1e bis 1g bezeichnet werden. Die Untersuchungen wurden mit Inkubationszeiten von ein bzw. fünf Stunden durchgeführt. Die Auswertung mittels Fluoreszenzmikroskopie erfolgte anhand von 3 Proben pro Beschichtung und Inkubationsdauer.

In Abbildung 6.2 sind die Aufnahmen der bakteriellen Besiedlung auf den Copolymerbeschichtungen nach einstündiger Inkubation in Abhängigkeit der Zusammensetzung dargestellt. Es kann ein Zusammenhang zwischen der Zusammensetzung im Copolymer 1 und der Adhäsion der Bakterien auf der Oberfläche beobachtet werden.

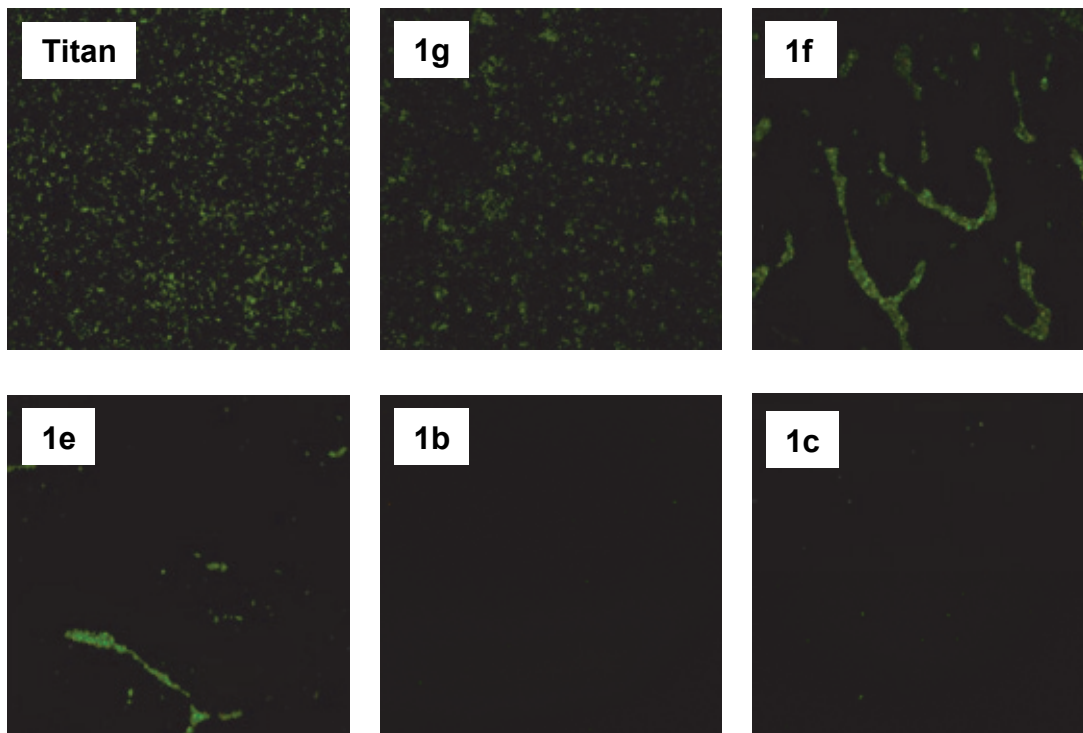


Abbildung 6.2: Übersichtsaufnahmen der angelagerten Bakterien auf verschiedenen Beschichtungen nach einstündiger Inkubation, Fixierung und Anfärbung mittels lebend/tot-Färbung: Titan als Referenzprobe, Copolymer 1g bis 1e sowie Copolymer 1b und 1c mit steigendem Anteil an DMMEP.⁷

Die unbeschichtete Titanoberfläche zeigt eine vollständige und gleichmäßige Besiedlung durch Bakterien. Die Copolymerbeschichtung 1g mit dem geringsten Anteil an DMMEP mit 37 mol% deutet auf eine vergleichbare Adhäsion der Bakterien wie das reine Titansubstrat hin. Es bilden sich gleichmäßig verteilte Gruppen von Bakterien und eine Abnahme der

⁷ Bildaufnahmen durchgeführt von Sebastian Grade, Medizinische Hochschule Hannover

Anzahl an adhärenenten Bakterien kann nicht festgestellt werden. Die Beschichtung 1f mit 38 mol% DMMEP weist eine starke Aggregatbildung der Bakterien auf, die sich größtenteils in Form einer „Straßenbildung“ manifestiert, aber nicht mit einer Verringerung der adhärenenten Bakterienzahl einhergeht. Eine deutliche Reduktion der Keimzahlen ist erstmals bei dem Copolymer 1e mit 59 mol% DMMEP zu beobachten. Die Aufnahme zeigt nur vereinzelt Aggregate, die eher im Randbereich der Substratoberfläche vorliegen. Ab einem Anteil von 64 mol% DMMEP bewirkt die Polymerbeschichtung 1b dann eine nahezu vollständige Reduktion der Bakterien. Diese Wirkung bleibt auch für die Beschichtung 1c mit 70 mol% DMMEP im Copolymer bestehen. Das Screening nach fünfstündiger Inkubation lieferte vergleichbare Ergebnisse, lediglich die Färbung fiel etwas schwächer aus. Die Erhöhung der Inkubationszeit ermöglicht, dass die Anlagerung über eine initiale Adhäsion der Bakterien hinaus analysiert werden kann. Somit wird die Wirksamkeit der Copolymerbeschichtungen zusätzlich nach einer längeren Inkubationsdauer belegt, so dass die Resultate aus den Screenings als aussagekräftig betrachtet werden können.

Aus den Ergebnissen der lebend/tot-Färbemethode wird durch die überwiegende Grünfärbung deutlich, dass die Bakterien durch die Beschichtung nicht aktiv abgetötet werden, da abgestorbene Bakterienzellen in einer solchen Färbung rot-fluoreszierend erscheinen würden. Dennoch scheint die Beschichtung je nach der Zusammensetzung unattraktiv für eine bakterielle Besiedlung zu sein. Mit ansteigendem DMMEP-Gehalt im Copolymer wird eine verstärkte Aggregation beobachtet, die als Gegenreaktion der Bakterien verstanden werden kann: der Kontakt mit einer für sie unattraktiven Substratoberfläche wird durch gegenseitigen Kontakt und daraus resultierender Zusammenlagerung weitestgehend vermieden. Diese Art der „Straßenbildung“ wird in der Literatur als Stressreaktion der Bakterien beschrieben. Bei polymeren Oberflächen wurde eine kontaktbakterizide Wirkung bei *Staphylococcus aureus*^[146] und *Staphylococcus epidermidis*^[93] unter Bildung solcher straßenförmiger Strukturen nachgewiesen.

Die Resultate der hier untersuchten Beschichtungen zeigen, dass mit steigendem Anteil an DMMEP die Anlagerung der Bakterien zunehmend gehemmt und ab 64 mol% vollständig reduziert wird. Diese Abhängigkeit zwischen dem DMMEP-Gehalt im Copolymer und der zu beobachtenden bakteriellen Reaktion deuten darauf hin, dass die Bakterien zunächst auf eine Stressreaktion reagieren, bevor ein bestimmter Grenzwert an DMMEP eine Bakterienadhäsion vollständig verhindert. Bei den Untersuchungen von PFAFFENROTH et al. wurde eine vergleichbare Wirkung beobachtet. Die Beschichtung von Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) mit 41 mol% DMMEP zeigte ähnliche Strukturen mit einer „Straßenbildung“. Bei

diesem System konnte mit einem Gehalt von 74 mol% DMMEP schließlich eine vollständige Reduktion der Bakterien auf der Oberfläche erreicht werden.^[99]

Schlussfolgernd belegen die Ergebnisse des Screenings, dass bei der Beschichtung von Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) ein Zusammenhang zwischen der Zusammensetzung im Copolymer und der antibakteriellen Wirksamkeit besteht. Gleichzeitig lassen die Ergebnisse vermuten, dass vor allem das Comonomer DMMEP eine entscheidende Einflussgröße darstellt.

6.2.2 Ergebnisse des Screenings von Poly(DMMEP-co-*methy*/DMAEMA)

Ausgehend von den vorherigen Ergebnissen wurden die Untersuchungen mit einer Beschichtung aus Poly(DMMEP-co-*methy*/DMAEMA) (Copolymer 2) und einer Inkubationszeit von fünf Stunden fortgeführt. Anhand dieses Screenings soll untersucht werden, ob die Länge der Alkylkette neben dem Anteil an DMMEP ebenfalls eine Einflussgröße darstellt und entscheidend für die antibakterielle Wirksamkeit des eingesetzten Copolymersystems ist. Daher wurde auf die Zusammensetzung mit einem hohen Anteil an DMMEP fokussiert und dementsprechend die Copolymere 2f mit 68 mol% und 2e mit 81 mol% DMMEP getestet. Daneben wurde auch die nicht alkylierte Form des Copolymers 1c (70 mol% DMMEP) mit in die Versuchsreihe eingeschlossen. Diese Vorstufe wurde nicht quartärnisiert und trägt deshalb keine kationische Gruppe. In der Literatur wird besonders diesem strukturellen Merkmal eine erhebliche Bedeutung für die antibakterielle Wirkung zugeschrieben.^[80]

Die Ergebnisse zur Anlagerung der Bakterien auf den verschiedenen Oberflächen sind in Abbildung 6.3 dargestellt. Das reine Titansubstrat zeigt wie erwartet eine gleichmäßige Besiedlung mit Bakterien. Die Adhäsion der Bakterien scheint bei der Vorstufe 1c, der nicht alkylierten Form, in vergleichbarem Ausmaß wie auf reinem Titan zu erfolgen. Die Beschichtungen der Copolymere 2f (68 mol% DMMEP) und 2e (81 mol% DMMEP) weisen hingegen eine nahezu vollständige Reduktion der Bakterien auf. Die Ergebnisse des Screenings verdeutlichen, dass die Beschichtung der nicht alkylierten Form keine deutliche Reduktion der Bakterien bewirkt. Somit kann angenommen werden, dass ein hoher Anteil an DMMEP nicht allein die Adhäsion der Bakterien verhindern kann, sondern dass eine quartäre Stickstoffverbindung und vor allem eine kationische Ladung dafür notwendig sind. Demzufolge kann mit einer Methylgruppe am Stickstoffatom dieselbe antibakterielle Aktivität der Beschichtung wie mit einer Hexylkette erreicht werden.

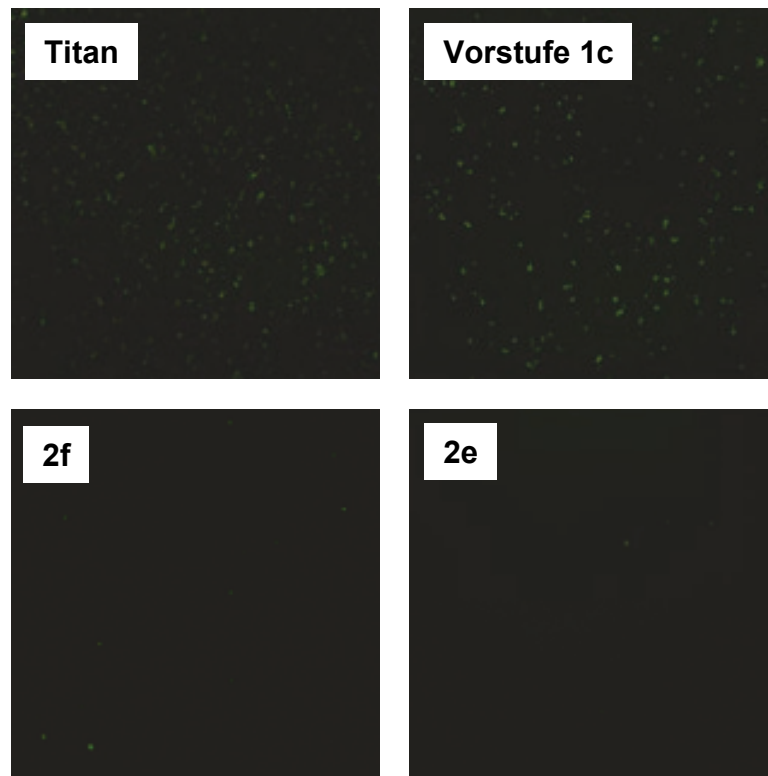


Abbildung 6.3: Übersichtsaufnahmen der angelagerten Bakterien auf unterschiedlichen Oberflächen nach einer Inkubationszeit von fünf Stunden mit lebend/tot-Färbung: reines Titan als Referenzprobe, Vorstufe von Copolymer 1c (nicht alkylierte Form Poly(DMMEP-co-DMAEMA)) sowie die Copolymere 2f und 2e von Poly(DMMEP-co-methylDMAEMA).⁸

Schlussfolgernd verdeutlichen die Untersuchungen der hier entwickelten Copolymere, dass eine quartäre Form mit einer kationischen Ladung vorhanden sein muss, um eine gewünschte antibakterielle Wirkung zu erzielen. Die Hydrophobie, der durch die Quartärnisierung eingebrachten Alkylkette im Polymer, kann allerdings vor diesem Hintergrund vernachlässigt werden.

6.2.3 Ergebnisse des Screenings von Poly(AEMA-co-hexylDMAEMA)

Die Screenings der Beschichtungen von Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA) und Poly(DMMEP-co-methylDMAEMA) haben gezeigt, dass das DMMEP einen entscheidenden Einfluss auf die Anlagerung der Bakterien hat. Inwieweit der Austausch des Comonomers DMMEP gegen AEMA im Poly(AEMA-co-hexylDMAEMA) (Copolymer 4) die Wirksamkeit beeinflusst, soll anhand der Beschichtungen mit einem hohen Gehalt an AEMA im Copolymer untersucht werden. Es wurden die Zusammensetzungen mit 52 mol% (Copolymer 4j) und 74 mol% AEMA (Copolymer 4h) eingesetzt. Neben Titan als

⁸ Bildaufnahmen durchgeführt von Sebastian Grade, Medizinische Hochschule Hannover

unbeschichtete Probe wurde die Beschichtung mit dem Copolymer 1b (64 mol% DMMEP), dessen Wirkung bereits nachgewiesen wurde, als Kontrolle mit in die Versuchreihe aufgenommen. Die Screenings wurden mit fünfstündiger Inkubationszeit durchgeführt. Die Anlagerung der Bakterien auf den verschiedenen Oberflächen ist in Abbildung 6.4 dargestellt. Neben der ebenso gleichmäßigen Besiedlung durch Bakterien wie auf unbeschichtetem Titan deutet die überwiegende Grünfärbung bei beiden Beschichtungen von Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) darauf hin, dass keine antibakterielle Wirkung vorliegt. Die Beschichtung 4h mit dem höchsten AEMA-Gehalt von 74 mol% lässt eine geringere Anzahl an adhärenenten Bakterien im Vergleich zu Copolymer 4j vermuten, ohne allerdings die Dichte auf dem unbeschichteten Substrat zu unterbieten. Zugleich macht die Kontrolle 1b, bei der wie erwartet eine vollständige Reduktion der Bakterien zu erkennen ist, die Reproduzierbarkeit der mikrobiellen Evaluierungsmethodik deutlich.

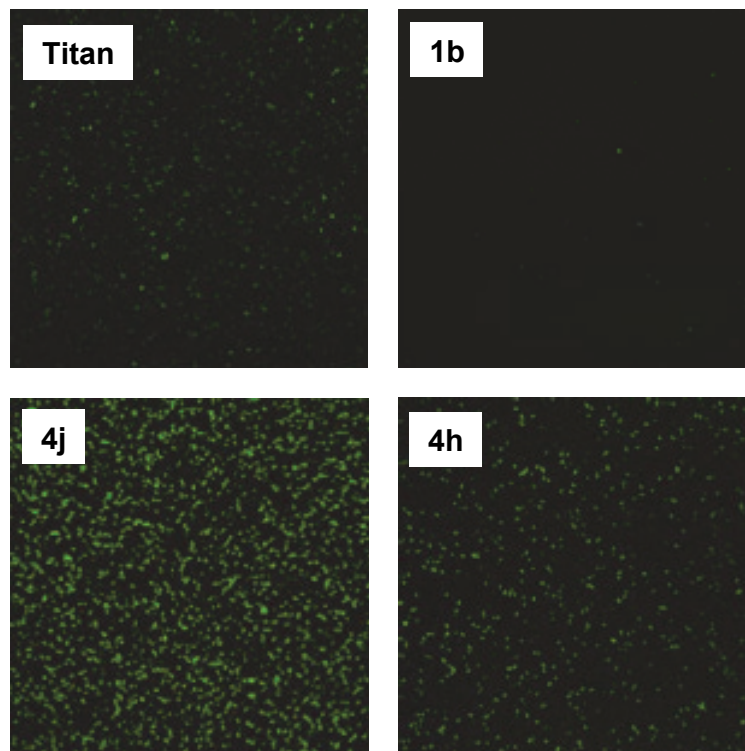


Abbildung 6.4: Übersichtsaufnahmen der Anlagerung der Bakterien nach fünfstündiger Inkubationszeit mit lebend/tot-Färbung auf Beschichtungen von Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) mit hohem Anteil an AEMA: 4j (52 mol%) und 4h (74 mol%). Beschichtung mit Copolymer 1b sowie reines Titan dienten als Kontrollprobe.⁹

Die Ergebnisse des Screenings zeigen insgesamt, dass die Beschichtungen von Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) keine Reduktion der Bakterienzahl auf der Oberfläche bewirken. Demzufolge führt der direkte Vergleich mit dem System Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA)

⁹ Bildaufnahmen durchgeführt von Sebastian Grade, Medizinische Hochschule Hannover

zu der Erkenntnis, dass das Comonomer *hexyl*/DMAEMA, dessen antibakterielle Wirkung in der Literatur beschrieben wurde, nicht allein ausreicht, um die gewünschten Effekte im hier untersuchten System zu erreichen. Zusammen mit den beobachteten Auswirkungen eines erhöhten DMMEP-Anteils in den Copolymeren kann angenommen werden, dass insbesondere dem Comonomer DMMEP ein erheblicher Anteil an der antibakteriellen Wirksamkeit zufällt. Ein Austausch von DMMEP durch das AEMA hat demzufolge eine Herabsetzung der Wirksamkeit gegenüber Pathogenen bewirkt.

6.2.4 Ergebnisse des Screenings der Homopolymere

Einen direkten Vergleich zwischen den jeweiligen Comonomeren ermöglicht die Untersuchung der Homopolymere Poly(DMMEP) und Poly(AEMA). Das Screening wurde unter denselben Bedingungen durchgeführt. Dabei wurde ein signifikanter Unterschied in der Anlagerung der Bakterien auf den Beschichtungen der Homopolymere beobachtet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6.5 dargestellt. Das Poly(DMMEP) zeigt keine adhärenierten Bakterien mehr, wohingegen es bei Poly(AEMA) weiterhin zur Anlagerung von Keimen kommt.

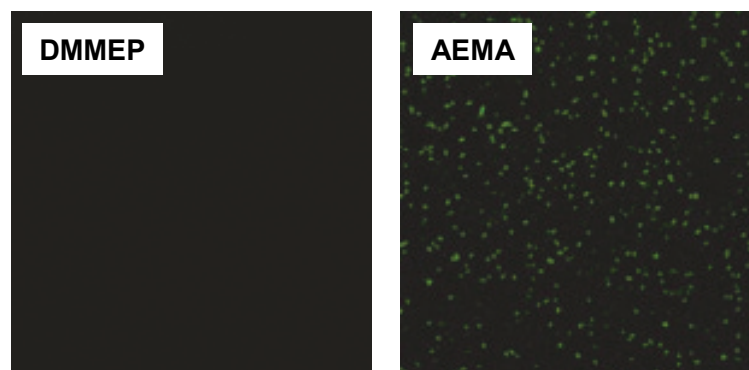


Abbildung 6.5: Übersichtsaufnahmen der Anlagerung der Bakterien nach einer Inkubationszeit von fünf Stunden mit lebend/tot-Färbung auf den mit Homopolymer beschichteten Oberflächen: Poly(DMMEP) sowie Poly(AEMA) zeigen signifikante Unterschiede in der Bakterienadhäsion.¹⁰

Die Beschichtungen der Homopolymere unterscheiden sich sowohl in den Schichtdicken als auch in den Oberflächeneigenschaften. Poly(DMMEP) bildet dünne Polymerfilme mit Schichtdicken bis maximal 10 nm aus, wohingegen Poly(AEMA) dicke Polymerfilme bis hin zu 60 nm aufweist (siehe Kapitel 5). Infolge höherer Schichten sollte die Bedeckung der Oberfläche zunehmen, so dass die Polymerbeschichtung eine stärkere Wirkung gegenüber

¹⁰ Bildaufnahmen durchgeführt von Sebastian Grade, Medizinische Hochschule Hannover

Bakterien haben sollte. Dieser Effekt scheint allerdings die antibakterielle Wirksamkeit sowohl von Poly(AEMA) als auch der aminhaltigen Copolymere nicht positiv zu beeinflussen. Stattdessen wird trotz dünner Polymerfilme die Wirksamkeit verschiedener Zusammensetzungen der Copolymere mit DMMEP nachgewiesen. Wie auch die Beschichtung von Poly(DMMEP) zeigt, scheint kein Zusammenhang zwischen der Schichtdicke und der Wirkung zu bestehen. Die Ergebnisse legen nahe, dass die erhöhte Hydrophilie von Poly(DMMEP) die Anlagerung der Bakterien verhindert. Anhand von Kontaktwinkelmessungen konnte bereits festgestellt werden, dass die Beschichtung von Poly(DMMEP) deutlich hydrophiler ist als von Poly(AEMA) (siehe Kapitel 5.1.1 und 5.2.4). Dieser Effekt wird aber weniger als kontaktbakterizid, sondern eher als bakterienabweisend bezeichnet, was auch durch eine fehlende Rotfärbung in den lebend/tot-Färbungen der hier durchgeführten Experimente noch einmal veranschaulicht wird. Bereits bei der Modifizierung mit Polymeren, die Antifouling-Eigenschaften besitzen, wurde durch eine erhöhte Hydrophilie die Adhäsion der Bakterien auf der Oberfläche verhindert und diese als bakterienabweisend beschrieben.^[147]

Insgesamt führen die Ergebnisse zu der Schlussfolgerung, dass das DMMEP aufgrund seiner Hydrophilie einen entscheidenden Einfluss auf die Reduktion der Bakterienadhäsion hat und erklärt zugleich die Abhängigkeit zwischen der Zusammensetzung und der antibakteriellen Wirkung. Bei der Untersuchung der antimikrobiellen Wirkung von modifizierten Oberflächen wurde zuvor diskutiert, dass das Gleichgewicht zwischen Hydrophilie und Hydrophobie eine entscheidende Einflussgröße in Hinblick auf die Wirkung darstellt.^[94] Die Ergebnisse der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Oberflächen belegen, dass die Hydrophilie auch bei den hier entwickelten Polymeren als entscheidender Parameter angenommen werden kann.

6.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Screenings auf antibakterielle Wirksamkeit der im Rahmen der Arbeit hergestellten Copolymerbeschichtungen ermöglichen insgesamt eine Aussage über den Einfluss struktureller Merkmale auf die Wirkung zu treffen. Die Untersuchungen der Beschichtungen von Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) verdeutlichen, dass die Zusammensetzung im Copolymer eine entscheidende Einflussgröße darstellt. So konnte mit steigendem Anteil an DMMEP eine Reduktion an adhärenenten Bakterien erreicht werden. Zudem machen weitere Screenings deutlich, dass vor allem die quartäre Ammoniumverbindung mit einer kationischen Ladung notwendig ist, um die gewünschte antibakterielle Wirkung zu erreichen. Gleichzeitig scheint die Länge der Alkylkette keinen entscheidenden Parameter in den hier

entwickelten Copolymeren darzustellen. So konnte für das Poly(DMMEP-co-*methy*/DMAEMA) dieselbe Wirksamkeit wie bei Poly(DMMEP-co-*hexy*/DMAEMA) nachgewiesen werden. Die Untersuchung der Beschichtungen von Poly(AEMA-co-*hexy*/DMAEMA) belegt schließlich, dass durch den Austausch des DMMEP die gewünschte antibakterielle Wirkung herabgesetzt wird und eine Reduktion der adhärenen Bakterien nicht nachweisbar ist. Durch den Vergleich der Homopolymere kann schließlich belegt werden, dass der Unterschied in der Hydrophilie Grund für die fehlende Wirkung ist. Zusammenfassend führen die Resultate zu der Erkenntnis, dass neben den strukturellen Merkmalen der quartären Verbindung, vor allem die Hydrophilie im Polymersystem von entscheidender Bedeutung ist. Unter Berücksichtigung der verschiedenen Wirkmechanismen lassen die Ergebnisse insgesamt ein Modell vermuten, welches die Wirkungsweise der hier entwickelten Copolymersysteme über die Ladungsdichte erklärt.^[43]

6.3. Untersuchung an teilbeschichteten Proben

Bei den Untersuchungen auf antimikrobielle Wirksamkeit wurden reine Titansubstrate als Kontrolle verwendet. So konnte zwischen der Adhäsion der Bakterien sowohl auf unbeschichteten als auch mit Polymer beschichteten Oberflächen differenziert werden. Um jedoch die Reduktion der bakteriellen Adhäsion einzig auf den direkten Kontakt mit dem aufgetragenen Polymer zurückzuführen und Artefakte durch lösliche oder abgelöste Substanzen aus der Beschichtung auszuschließen, sollte die Wirksamkeit der Polymerbeschichtung anhand von teilbeschichteten Proben erneut belegt werden. Zusätzlich sollte eine Quantifizierung an teilbeschichteten Substraten erleichtert werden.

Im Rahmen dieser Arbeit ist es gelungen, eine Methodik für die Herstellung von Teilbeschichtungen mit einer klar definierten Grenze zwischen beschichtetem und unbeschichtetem Bereich auf ein und derselben Substratoberfläche zu entwickeln. Der Fokus wurde dabei auf eine leichte Präparation der Proben mit wenig Aufwand gelegt. Im Folgenden werden zwei Methoden vorgestellt und miteinander verglichen.

6.3.1 Entwicklung von Teilbeschichtungen durch Plasmabehandlung

Zur Herstellung von Teilbeschichtungen wurde die Behandlung der Proben mittels Plasma als eine mögliche Methode angewandt. Aufgrund des ionisierenden Gases sollte das Plasma einen Abbau von organischen Polymerketten bewirken. Demzufolge wurden beschichtete Proben zur Hälfte mit einer Klebefolie abgeklebt und anschließend mit Plasma behandelt.

Beabsichtigt war, dass die Maskierung durch die Klebefolie vor dem Einfluss des Plasmas schützt und die darunter liegende Beschichtung somit intakt bleibt. Die nicht abgeklebte Fläche hingegen sollte nach der Behandlung keine Polymerbeschichtung mehr aufweisen, so dass innerhalb der Substratoberfläche sowohl ein beschichteter als auch unbeschichteter Bereich geschaffen wird. Nach der Plasmabehandlung wurde die Folie wieder entfernt und anhand von Schichtdicke und Kontaktwinkelmessungen untersucht, ob Unterschiede zwischen den beiden Bereichen messbar sind.

Ergebnisse plasmabehandelter Proben

Zur Beurteilung der Methode wurden die Versuche an dem von PFAFFENROTH et al. entwickelten System Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) durchgeführt.^[47] Diese Beschichtungen wurden bereits eingehend getestet und bieten den Vorteil anhand von Untersuchungen der Schichtdicke einschätzen zu können, inwieweit eine Grenzfläche innerhalb eines Titansubstrates mittels Plasmabehandlung realisiert werden kann. In Tabelle 6.1 sind die Ergebnisse der Untersuchungen von drei unabhängigen Proben mit Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) (59:41) (Copolymer 5a) dargestellt. Die Werte der Schichtdicke sowie des Kontaktwinkels vor der Behandlung sind dabei vergleichbar mit denen vorheriger Untersuchungen.^[47]

Die Plasmabehandlung sollte infolge des Abbaus der Polymerketten auf der Substratoberfläche eine deutliche Abnahme der Schichtdicke bewirken. Zudem werden Substratoberflächen mit Plasma behandelt, um die Oberflächen zu aktivieren. Bei Titansubstraten würde eine Aktivierung in der Zunahme von Hydroxygruppen auf der Oberfläche resultieren, was folglich die Hydrophilie steigert und zu einer Abnahme des Kontaktwinkels führen sollte. Für den nicht abgeklebten Bereich sollten sehr geringe Kontaktwinkel bis fast nicht messbare Werte aufgrund einer vollständigen Benetzung der Oberfläche erwartet werden.

Entgegen der Erwartung zeigen jedoch die Werte innerhalb des nicht abgeklebten Bereichs mehrheitlich eine Zunahme der Schichtdicke und des Kontaktwinkels in Folge der Plasmabehandlung. Bei Probe 1 steigt die Schichtdicke von ca. 4 nm auf 6 nm an und der vordere (adv) Kontaktwinkel erhöht sich von 57° auf 72°. Die Probe 3 weist ebenfalls einen Anstieg der Schichtdicke um 2 nm auf sowie eine Erhöhung des vorderen Kontaktwinkels von 59° auf 68°. Lediglich die Ergebnisse der Probe 2 deuten eher auf eine Abnahme hin, die bei der Schichtdicke von 2,8 nm auf 2,0 nm im Fehlerbereich des Ellipsometers liegt, bei den Kontaktwinkeln jedoch mit 59° (adv) auf 45° bzw. 44° (rec) auf 28° aussagekräftiger scheint.

Die partielle Zunahme der Schichtdicke könnte bedingt sein durch die Ausbildung einer dickeren Titan(oxid)schicht. Diese würde allerdings eine deutliche Abnahme des Kontaktwinkels erwarten lassen. Die Ergebnisse deuten insgesamt darauf hin, dass die Behandlung mittels Plasma ungeeignet ist, eine Grenzfläche zwischen beschichtetem und unbeschichtetem Bereich zu schaffen. Zusätzlich zeigen die Werte der drei Proben für den beschichteten Bereich, der während der Plasmabehandlung abgeklebt wurde, ebenfalls eine Zunahme der Schichtdicke um 4 nm bis 6 nm sowie einen Anstieg des vorderen Kontaktwinkels um 12° bis 20°. Der Anstieg der Werte auch an dieser Stelle lässt vermuten, dass die Maskierung des beschichteten Bereichs durch die Klebefolie eine Veränderung der Oberfläche bewirkt hat oder womöglich die Maskierung nicht gelungen ist.

Tabelle 6.1: Daten zu Schichtdicke und Kontaktwinkel der mit Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) (59:41) beschichteten Proben vor und nach der Plasmabehandlung. Der beschichtete Bereich wurde während der Behandlung abgeklebt.

Probe (Messbereich)	Behandlung	Schichtdicke [nm]	Kontaktwinkel [°]	
			adv	rec
1 (beschichtet)	keine	$4,2 \pm 0,1$	57 ± 3	43 ± 1
1 (abgeklebt)	Plasma	$7,9 \pm 0,3$	81 ± 5	60 ± 4
1 (nicht abgeklebt)	Plasma	$6,0 \pm 0,1$	72 ± 1	48 ± 3
2 (beschichtet)	keine	$2,8 \pm 0,1$	59 ± 2	44 ± 2
2 (abgeklebt)	Plasma	$8,8 \pm 2,9$	71 ± 0	42 ± 1
2 (nicht abgeklebt)	Plasma	$2,0 \pm 0,02$	45 ± 1	28 ± 3
3 (beschichtet)	keine	$3,2 \pm 0,1$	59 ± 2	44 ± 1
3 (abgeklebt)	Plasma	$8,3 \pm 1,0$	79 ± 4	62 ± 2
3 (nicht abgeklebt)	Plasma	$5,3 \pm 0,1$	68 ± 4	53 ± 6

Insgesamt kann anhand der Schichtdicke und des Kontaktwinkels kein Abbauverhalten der Polymerketten im nicht abgeklebten Bereich nachgewiesen werden. Zudem scheint das Abkleben der Polymerbeschichtung sowie anschließendes Entfernen der Folie diese zu beeinflussen. Es kann spekuliert werden, dass womöglich Kleberreste als Rückstände auf der Polymerbeschichtung nicht vermieden werden können. Der Ansatz durch Abkleben mit der Folie ist dennoch vielversprechend, da die Präparation recht einfach ist. Allerdings wird ausgehend von den Ergebnissen die Maskierung der Oberfläche abgewandelt und der unbeschichtete Bereich abgeklebt. Diese Methode wird im Folgenden beschrieben.

6.3.2 Entwicklung von Teilbeschichtungen unter Einsatz einer Schablone

Eine andere Möglichkeit zur Herstellung von Teilbeschichtungen beschreibt die Verwendung einer Art Schablone, die in Abbildung 6.6 A dargestellt ist. Aus der Klebefolie wird ein Loch mit einem Durchmesser von 6 mm ausgestanzt. Durch das Abkleben des reinen Titansubstrats mit der Schablone und anschließendem Beschichten über Spin-Coating wird auf der ausgesparten Fläche in der Mitte der Probe das Polymer aufgebracht. Die Klebefolie wird anschließend entfernt und mit der Polymerbeschichtung wie in Kapitel 5 weiter verfahren. Die Polymerbeschichtung wird unter Anwendung dieser Methode nicht mit der Klebefolie in Kontakt gebracht, so dass keine Beeinträchtigung dieser erwartet wird. Da sich die Differenzierung zwischen beschichtetem und unbeschichtetem Bereich anhand von Schichtdicke und Kontaktwinkel bereits bei der Plasmabehandlung als schwierig und fehleranfällig erwies, wird die Teilbeschichtung zunächst mittels ToF-SIMS analysiert.

Ergebnisse unter Einsatz einer Schablone

Die Untersuchungen wurden an der teilbeschichteten Probe von Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) vorgenommen. In Abbildung 6.6 B bis E sind die Detailaufnahmen der Polymerbeschichtung dargestellt.

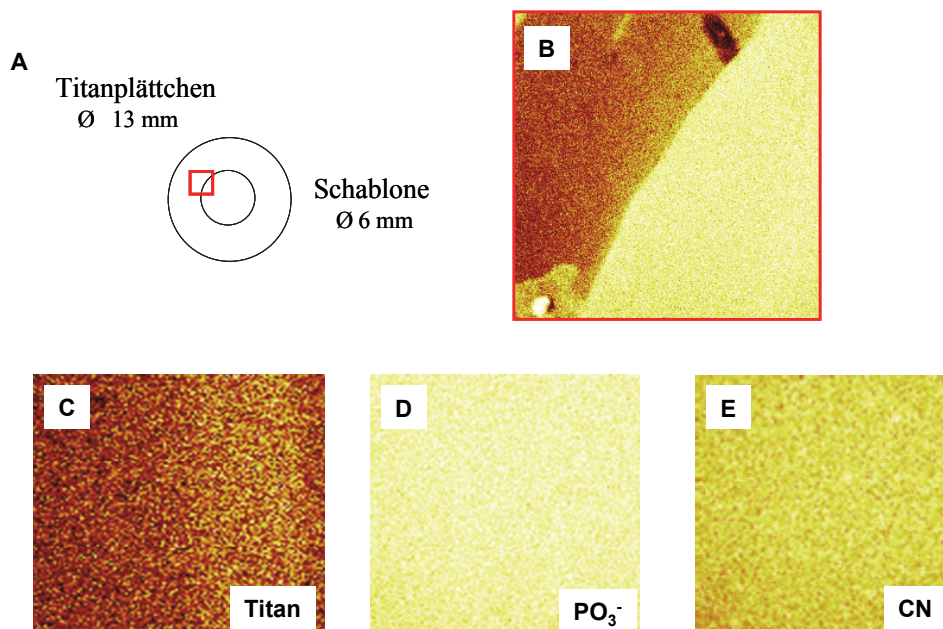


Abbildung 6.6: Teilbeschichtete Titanproben mit Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) (59:41): a) Skizze der für die Beschichtungen verwendeten Schablone, Detailaufnahme der Teilbeschichtung in B (ToF-SIMS) mit einem Ausschnitt von 500x500 µm mit hellen Bereichen hervorgerufen durch PO₃⁻-Ionen (siehe Aufnahme D) und CN-Atomen (Aufnahme E) sowie dunkle Bereiche vom Titan (Aufnahme C). Am linken unteren Rand in B sind Ausfransungen zu erkennen.¹¹

¹¹ Bildaufnahmen durchgeführt am NESAC/Bio in Seattle von Dr. Wibke Dempwolf, Technische Universität Braunschweig

Die Aufnahme B zeigt eine Grenzfläche zwischen einem dunklen und hellen Bereich. Der dunkle Bereich wird wie in Aufnahme C durch das Titan hervorgerufen und zeigt eine klare Trennung zu dem hellen Bereich, der durch die Phosphonat-Ionen (PO_3^- -Ionen) und die Kohlenstoff-Stickstoff-Verbindungen (CN) verursacht wird. Im linken unteren Rand der Abbildung B sind Ausfransungen zu erkennen, die darauf hindeuten, dass die Grenzfläche stellenweise nicht ganz scharf ist. Insgesamt zeigen diese Aufnahmen aus der Analyse mittels ToF-SIMS, dass durch den Einsatz einer Schablone teilbeschichtete Proben der Polymerbeschichtungen realisiert werden können. Somit stellt die Methode unter Verwendung einer Schablone ein geeignetes und einfaches Verfahren zur Herstellung von teilbeschichteten Proben dar.

Die Methode wurde auf die Beschichtung des Copolymers Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) übertragen und teilbeschichtete Proben hergestellt. Die Schichtdicken der teilbeschichteten Bereiche der Polymerfilme 1b (64 mol%) und 1c (70 mol%) mit hohem DMMEP-Gehalt wurden von jeweils 10 Proben bestimmt und als Mittelwert in Tabelle 6.2 dargestellt. Ein Vergleich mit den Werten der vollbeschichteten Proben aus Tabelle 5.1 (Seite 67) zeigt eine gute Übereinstimmung der Werte.

Tabelle 6.2: Daten zu Schichtdicke von Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) der Beschichtungen 1b und 1c: Mittelwert ermittelt anhand von 10 teilbeschichteten Proben.

Beschichtung	Probe	Schichtdicke [nm]
Copolymer 1b	vollbeschichtet	$3,8 \pm 0,04^1$
	teilbeschichtet	$3,3 \pm 0,5$
Copolymer 1c	vollbeschichtet	$4,6 \pm 0,6^1$
	teilbeschichtet	$4,5 \pm 0,8$

¹Daten aus Tabelle 5.1 entnommen

Die Beschichtung von Copolymer 1b stimmt mit einer durchschnittlichen Schichtdicke von 3,3 nm für die Teilbeschichtung gut mit den Ergebnissen der Filmdicke von 3,8 nm der vollbeschichteten Probe überein. Die Beschichtung 1c liefert mit einem Unterschied von nur 0,1 nm sogar nahezu identische Werte. Somit kann anhand der Bestimmung der Schichtdicke belegt werden, dass das beschriebene Verfahren zur Herstellung von teilbeschichteten Proben auch auf die hier entwickelten Copolymere erfolgreich übertragen werden konnte.

6.3.3 Antimikrobielle Untersuchungen teilbeschichteter Proben

Die Methode zur Herstellung teilbeschichteter Proben wurde entwickelt, um Untersuchungen zur Anlagerung der Bakterien im unbeschichteten und beschichteten Bereich innerhalb einer Substratoberfläche zu ermöglichen und somit die beobachtete Bakterienreduktion auf den Direktkontakt mit der Beschichtung zurückzuführen. Ausgehend von vorherigen Screenings wurde die antibakterielle Wirksamkeit für bestimmte Oberflächen gegenüber *Staphylococcus epidermidis* bereits nachgewiesen. Anhand der teilbeschichteten Proben sollte daher die Anlagerung des pathogenen Keims *Staphylococcus aureus* untersucht werden. Die Evaluierung der Methode zur Herstellung von Teilbeschichtungen erfolgte an dem System Poly(hexyl-VP)-co-DMMEP von PFAFFENROTH et al. sowie dem hier entwickelten Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA). Demzufolge wurden die Zusammensetzungen 1b (64 mol% DMMEP) und 1c (70 mol% DMMEP) von Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA) sowie die Beschichtung Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) mit der Zusammensetzung (24:76) (Copolymer 5b), dessen Wirkung bereits auf den Keim *Streptococcus mutans* nachgewiesen wurde^[99], untersucht. Die Bedingungen wie lebend/tot-Färbung und fünfstündige Inkubationszeit wurden beibehalten, die Probenanzahl wurde auf zehn erhöht, um die Ergebnisse der Teilbeschichtungen statistisch abzusichern.

In Abbildung 6.7 ist die Anlagerung der Bakterien auf den verschiedenen Polymerbeschichtungen dargestellt. Mittels Fluoreszenzmikroskopie wurden Aufnahmen von Rand und Mitte der jeweiligen Teilbeschichtung sowie von der Grenzfläche gemacht. Die Abbildung des Randes entspricht dem unbeschichteten Bereich, wohingegen die Mitte den beschichteten Bereich darstellt. Bei allen drei Copolymerbeschichtungen ist ein deutlicher Unterschied in der Bakterienadhäsion zwischen dem Rand und der Mitte festzustellen. Auf dem Rand und somit im unbeschichteten Bereich weist die Oberfläche eine gleichmäßige Verteilung adhärenter, lebender Bakterien auf. Die Abbildungen lassen allenfalls einzelne rote, demnach tote Bakterien beobachten. Der beschichtete Bereich in der Mitte hingegen zeigt deutlich, dass sich bei 1b keine bzw. bei 1c sowie 5b nur einzelne Bakterien auf der Oberfläche anlagern können. Der beschichtete Bereich wirkt vielmehr abstoßend im Direktkontakt mit den Bakterien, so dass diese sich bevorzugt auf dem unbeschichteten Bereich ansiedeln. Eine Wirkung der Beschichtung über den Direktkontakt hinaus findet allerdings nicht statt, was durch die Ausbildung einer scharfen Grenzlinie ohne Übergangsbereich klar erkennbar ist. Bei der Beschichtung 5b ist im unbeschichteten Bereich die erhöhte Anzahl an toten Bakterien auffällig, eine Grenzschicht ist dennoch zu erkennen.

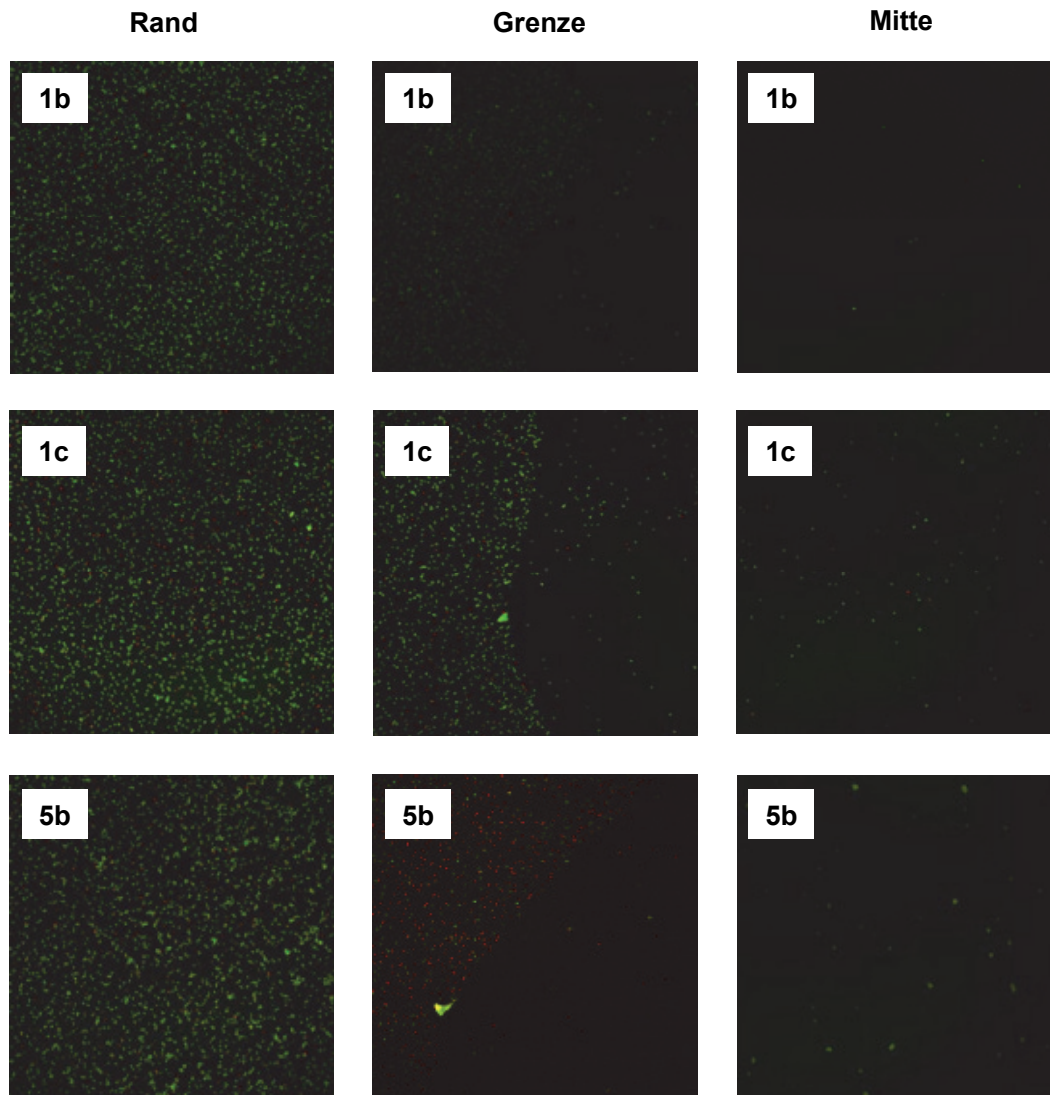


Abbildung 6.7: Anlagerung der Bakterien auf verschiedenen Oberflächen nach fünfstündiger Inkubation mit lebend/tot-Färbung: Detailaufnahmen von Rand, Grenze und Mitte teilbeschichteter Proben von 1b und 1c (Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA)) sowie 5b (Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP)).¹²

Um die bevorzugte Anlagerung der Bakterien auf dem vormals abgeklebten Titansubstrat durch Rückstände der Klebefolie in diesem Fall auszuschließen, wurde die Bakterienadhäsion sowohl auf reinem nicht abgeklebten Titansubstrat als auch auf einer zuvor abgeklebten Titanoberfläche ohne nachfolgende Beschichtung mit Copolymeren untersucht. Die Ergebnisse in Abbildung 6.8 zeigen keinen Unterschied in der Bakterienadhäsion, beide Oberflächen deuten auf eine gleichmäßige Anlagerung von Bakterien mit einem gewissen Anteil an toten Keimen hin. Rückstände der Klebefolie als Ursache für die bevorzugte Anlagerung der Bakterien im Randbereich kann somit widerlegt werden.

¹² Bildaufnahmen durchgeführt von Sebastian Grade, Medizinische Hochschule Hannover

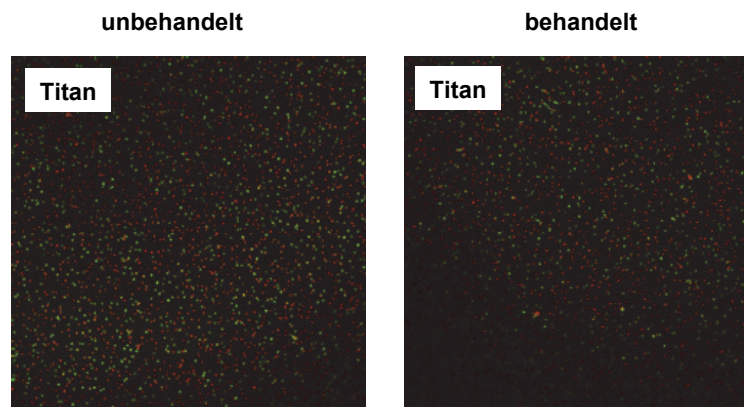


Abbildung 6.8: Anlagerung der Bakterien auf reiner Titanoberfläche ohne Behandlung sowie auf einer zuvor durch Klebefolie abgeklebten.¹³

Zusätzlich wurden die Untersuchungen der teilbeschichteten Proben durch eine statistische Quantifizierung ausgewertet. Die Auswertung erfolgte durch die Bestimmung der Bakterienzahl in definierten Ausschnitten der teilbeschichteten Proben. Die Ergebnisse sind graphisch in Abbildung 6.9 dargestellt. Im Vergleich zu unbeschichtetem Titan liefert die Auswertung eine eindeutige Reduktion der Bakterienzahl im beschichteten Bereich unabhängig vom verwendeten Copolymer. Für die Beschichtung Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) wurde eine signifikante Reduktion an adhärenenten Keimen von 97 % (Copolymer 1c) und 95 % (Copolymer 1b) bestimmt. Das Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) (24:76) (Copolymer 5b) weist mit 65 % einen etwas geringeren Wert auf. Bei den vorherigen Screenings wurde bereits diskutiert, dass die Beschichtung sich auf die Adhäsionsfähigkeit der Bakterien auswirkt und weniger auf dessen Vitalität. Auch bei den untersuchten Teilbeschichtungen ist für *Staphylococcus aureus* eine allgemeine Reduktion, aber keine Erhöhung des Totanteils auf den beschichteten Flächen festzustellen, die daher vernachlässigt werden kann und nicht weiter diskutiert wird.

Insgesamt konnte für alle drei Beschichtungen die Reduktion der Bakterienadhäsion anhand von Teilbeschichtungen belegt und statistisch abgesichert werden. Der Unterschied der Ergebnisse zwischen Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) und Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) könnte durch eine Verschiebung der Mischungsverhältnisse durch die verschiedenen Comonomere VP und DMAEMA erklärt werden. Das von PFAFFENROTH et al. entwickelte System zeigte eine vergleichbare antibakterielle Wirksamkeit, allerdings wurde eine vollständige Reduktion der Besiedlung erst mit einem Gehalt von 74 mol% DMMEP beobachtet.^[47] Bei dem hier entwickelten Copolymer konnte bereits bei einer Copolymerbeschichtung mit 64 mol% DMMEP dieselbe Wirkung erreicht werden. Somit

¹³ Bildaufnahmen durchgeführt von Sebastian Grade, Medizinische Hochschule Hannover

kann nur vermutet werden, dass leichte Unterschiede in der Zusammensetzung sowie der Comonomere den Unterschied in der bakteriellen Wirksamkeit ausmachen.

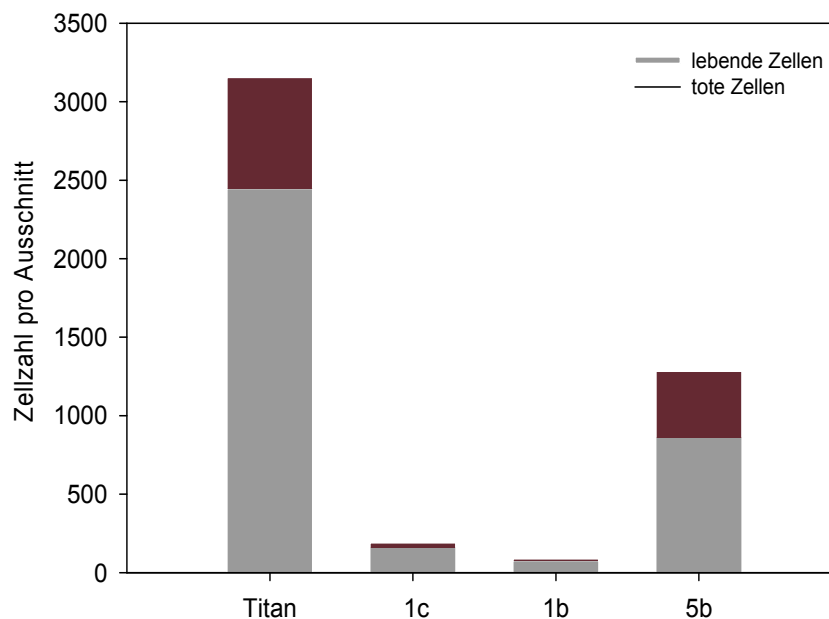


Abbildung 6.9: Quantitative Darstellung der adhärenierten Bakterien auf verschiedenen Oberflächen: reines Titan, beschichtet mit Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) (Copolymer 1c und 1b) und Poly(*hexyl*VP)-co-(DMMEP) (24:76) (Copolymer 5b). Lebende Zellen entsprechen den grauen Balken, tote Zellen den roten Balken.

Zusammenfassend konnte die antibakterielle Wirksamkeit der Polymerbeschichtungen auch gegenüber dem Keim *Staphylococcus aureus* anhand der Adhäsion der Bakterien auf teilbeschichteten Proben nachgewiesen werden. Zudem belegen die Untersuchungen, dass die Wirksamkeit aus dem direkten Kontakt mit der Polymerbeschichtung resultiert.

6.4 Biokompatibilität der Polymerbeschichtungen

Für die Anwendung von Polymerbeschichtungen auf Implantatoberflächen im Bereich des Hautdurchtritts ist es notwendig, die biokompatiblen Eigenschaften nachzuweisen. Für die Untersuchung der Biokompatibilität wird die Weichgewebsanlagerung von humanen Dermisfibroblasten an den Copolymeren Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) und Poly(DMMEP-co-*methy*/DMAEMA) jeweils in unterschiedlichen Zusammensetzungen getestet, für die eine antibakterielle Wirkung in den vorherigen Untersuchungen bereits nachgewiesen wurden. Das System Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) zeigte zwar nicht die gewünschte Wirksamkeit gegenüber Bakterien, wird aber als Vergleich mit in die Versuchreihe integriert. Dieses System wurde im Rahmen dieser Arbeit mit dem Ziel hergestellt, neben einer neuen Anbindungsstrategie durch das AEMA zusätzlich eine Verbesserung der Biokompatibilität von Polymersystemen zu erreichen.^[77] Inwieweit das

AEMA eine Verbesserung bewirkt, soll ein Vergleich mit dem Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) zeigen. Neben der Zusammensetzung mit dem höchsten Anteil an AEMA, wird auch die Beschichtung mit dem geringsten Anteil getestet. Dabei ist von Interesse, ob ein Zusammenhang zwischen dem AEMA-Anteil im Copolymer und den biokompatiblen Eigenschaften besteht. Ein Unterschied in der Hydrophilie der Polymere und ein möglicher Einfluss auf die biokompatiblen Eigenschaften soll anhand der Homopolymere Poly(DMMEP) und Poly(AEMA) bewertet werden.

6.4.1 Untersuchungsmethoden zur Biokompatibilität

Zur Beurteilung der Biokompatibilität von Implantatwerkstoffen mit Zellkulturen können verschiedene Testverfahren eingesetzt werden.^[148] Um einen direkten Effekt an Implantatoberflächen zu untersuchen, werden beispielsweise verschiedene Farbstests eingesetzt, die Aussagen über die Intaktheit und Enzymaktivität der Zellen ermöglichen. So kann der Farbstoff *Trypanblau* verwendet werden, der in defekte Zellen eindringt und diese blau färbt, so dass zwischen vitalen und geschädigten Zellen differenziert werden kann. Ein weit verbreitetes Verfahren ist der *MTT*-Test, bei dem das 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (*MTT*) als Farbstoff eingesetzt wird.^[149] Über einen Farbwechsel im Zuge des Substratumsatzes durch die Succinat-Dehydrogenase kann dabei vor allem die mitochondriale Aktivität der Zellen bestimmt werden. Eine andere Untersuchungsmethode stellt der *LDH*-Test dar, der auf dem natürlichen Bestandteil des Zytoplasmas, der *Lactatdehydrogenase* (*LDH*) basiert.^[150] Eine Zerstörung der Zellmembran bewirkt die Freisetzung der zytoplasmatischen Bestandteile, so dass das Enzym *LDH* im umgebenden Nährmedium nachgewiesen werden kann. Der *LDH*-Test dient dabei der Beurteilung von Zellschädigung.

An der Medizinischen Hochschule in Hannover wurde speziell für die Untersuchung von beschichteten Oberflächen eine Methode entwickelt, die auf der Funktionsweise des *LDH*-Tests basiert. Dabei wurde die komplette Lyse aller adhärenen Zellen auf einer Oberfläche, die normalerweise den Maximalwert im originalen Test liefert, dazu verwendet, Unterschiede in der Anzahl der angelagerten Zellen auf der Substratoberfläche zu bestimmen.^[151] Zur Analyse der initialen Adhäsion wurde eine Inkubationszeit von 24 Stunden, für die Ermittlung der Fähigkeit zur Proliferation eine längere Inkubation von 72 Stunden gewählt. Für die Auswertung wurden verschiedene Zelldichten auf Zellkulturplastik ausgesät und die Gesamtzellzahl sowie *LDH*-Konzentration aller angelagerten Zellen nach Zelllyse für jede Dichte bestimmt. Daraus wurden Standardkurven für beide Zeiträume abgeleitet. Anhand

dieser Kurven lassen sich die Mengen adhärenter Fibroblasten auf den zu untersuchenden Substratoberflächen auch bei hoher Probenanzahl und mit geringen Standardabweichungen vereinfacht ermitteln. Zusätzlich zu den auf diese Weise erhaltenen Informationen zur Adhäsion und Proliferation wurde die Zellmorphologie mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) analysiert.

6.4.2 Ergebnisse der Untersuchungen zur Biokompatibilität

Die Untersuchungen der Biokompatibilität gegenüber humanen Dermisfibroblasten wurden anhand einer statistisch relevanten Probenanzahl durchgeführt. Die Biokompatibilität der modifizierten Oberflächen wurde im Vergleich zur reinen Titanoberfläche beurteilt. In Abbildung 6.10 ist der Bewuchs an Fibroblasten auf den unterschiedlichen beschichteten Oberflächen im prozentualen Vergleich zu dem auf unbeschichtetem Titan dargestellt.

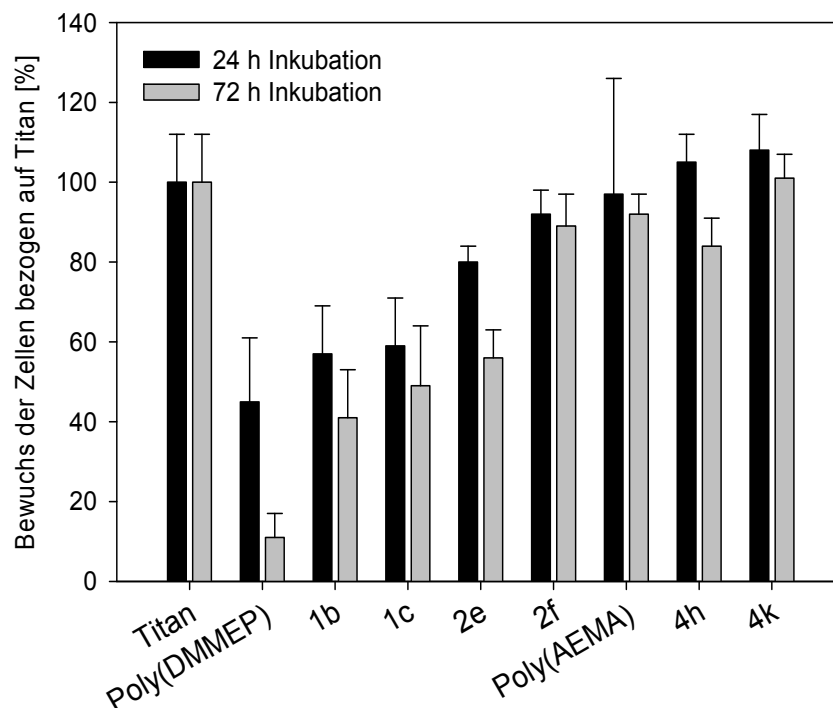


Abbildung 6.10: Quantitative Bestimmung des Bewuchses durch humane Dermisfibroblasten auf verschiedenen Oberflächen nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden (schwarze Balken) und 72 Stunden (graue Balken) bezogen auf reine Titanoberfläche.

Die Ergebnisse zeigen nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden für die Beschichtung 1b (64 mol% DMMEP) und 1c (70 mol% DMMEP) im Vergleich zur Titanoberfläche eine verschlechterte initiale Adhäsion von weniger als 60 %. Zusätzlich wird die Reduktion in der Wachstumsphase verstärkt, so dass die Proliferation (72 Stunden Inkubationszeit) verzögert

abläuft und der Bewuchs mit Zellen auf 40 % im Vergleich zur Kontrolle abnimmt. Die Beschichtung mit reinem Poly(DMMEP) führt mit nur etwas über 40 % zur geringsten Anzahl an adhärennten Zellen auch im Vergleich zu allen anderen Beschichtungen, die in den weiteren Tagen sogar noch auf ca. 10 % abnimmt. Die Ergebnisse deuten nicht nur auf eine verschlechterte Adhäsion, sondern auch auf eine verminderte Proliferation. Die Aufnahmen der Zellmorphologie in Abbildung 6.11 zeigen nach 24 Stunden für das Poly(DMMEP) wenige Zellen im Vergleich zu allen anderen Beschichtungen, so dass die Beobachtungen sich mit der molekularbiologischen Quantifizierung decken. Bei den REM-Aufnahmen nach 72 Stunden Inkubationszeit in Abbildung 6.12 hingegen kann die erhöhte Diskrepanz zwischen beschichteten und unbeschichteten Proben, wie quantitativ bestimmt, nicht in der Form festgestellt werden. Dies zeigt deutlich wie wenig aussagekräftig ein Ausschnitt einer mikroskopischen Aufnahme in Bezug auf eine quantitative Auswertung ist. Bei den Copolymeren 1b und 1c wird dagegen die zuvor ermittelte Reduktion in Adhäsion und Proliferation humaner Weichgewebszellen auch in den Aufnahmen der Zellmorphologie in Abbildung 6.11 und 6.12 beobachtet.

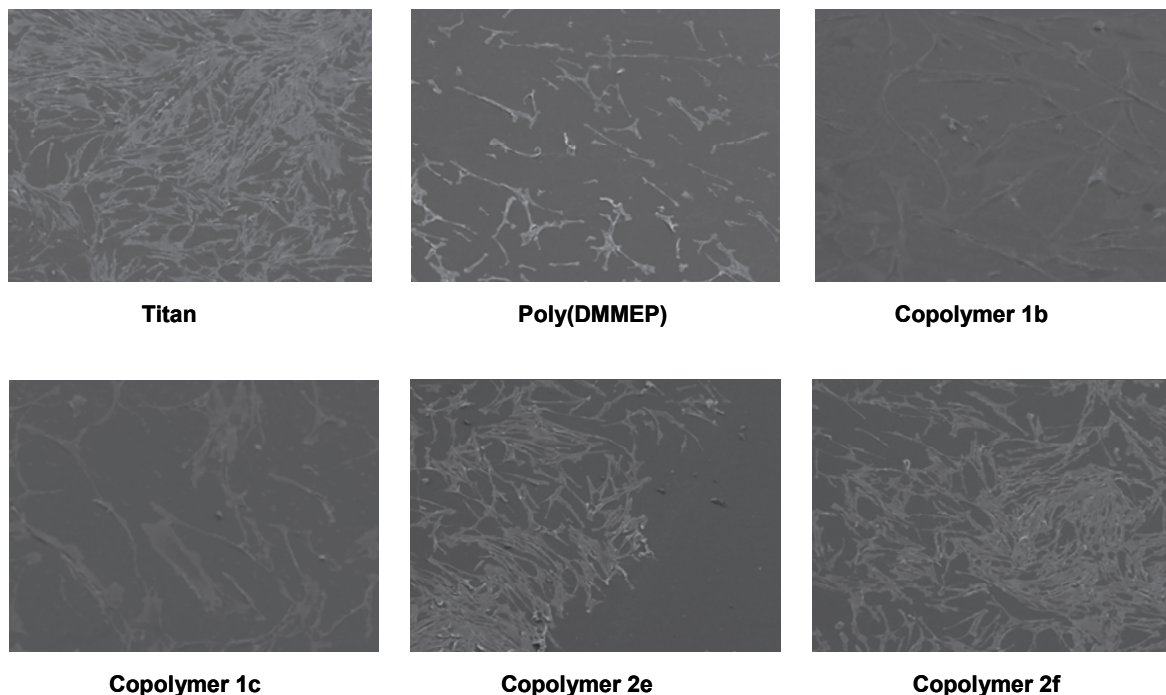


Abbildung 6.11: REM-Aufnahmen adhärenter humaner Dermisfibroblasten nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden mit einer 85fachen Bildvergrößerung (1b und 1c 170fach vergrößert).¹⁴

¹⁴ Bildaufnahmen durchgeführt von Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

Es kann vermutet werden, dass der hohe DMMEP-Anteil im Copolymer 1 eine verringerte zelluläre Aktivität bewirkt. Vorherige Untersuchungen haben bereits das DMMEP als weniger biokompatibel eingestuft^[122], was durch diese Ergebnisse bekräftigt wird. Allerdings scheint der negative Einfluss auf das Zellwachstum durch das DMMEP bei Poly(DMMEP-co-methy/DMAEMA) weniger stark ausgeprägt zu sein. Die Beschichtungen 2e (81 mol% DMMEP) und 2f (68 mol% DMMEP) zeigen mit 80 % und 92 % eine mit Titan vergleichbar gute Zelladhäsion, die nach 72 Stunden Inkubationszeit für 2f nur gering abnimmt. Bei der Zusammensetzung 2e mit höherem Anteil an DMMEP ist eine statistisch signifikante Abnahme der Proliferationsrate zu beobachten, resultierend in einer Besiedlungsdichte im Vergleich von etwas unter 60 %. Insgesamt deuten die beiden Beschichtungen trotz eines hohen Anteils an DMMEP im Copolymer und der damit einhergehenden leichten Reduktion auf recht gute biokompatible Eigenschaften hin, die durch die REM-Aufnahmen zur Zellmorphologie weitestgehend bekräftigt werden.

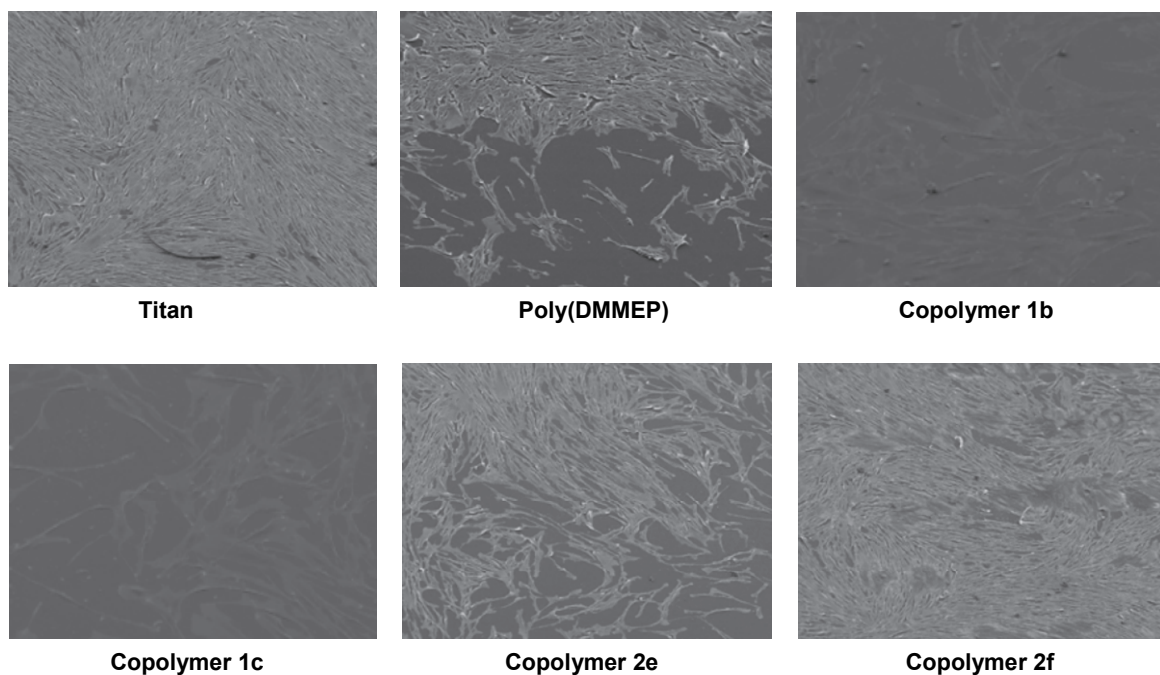


Abbildung 6.12: REM-Aufnahmen adhärenter humaner Dermisfibroblasten nach einer Inkubationszeit von 72 Stunden mit einer 85fachen Bildvergrößerung (1b und 1c 170fach vergrößert).¹⁵

In Abbildung 6.11 sind auf der mit Copolymer 2f modifizierten Oberfläche lang gestreckte Zellen mit nur wenigen Bereichen ohne Zellen zu sehen. Die Adhäsion der Zellen gleicht insgesamt der auf unbeschichtetem Titan (siehe Abbildung 6.11). Vergleichbares gilt auch für die Beschichtung 2e. Nach einer Inkubationszeit von 72 Stunden zeigt sich ein ähnliches Bild

¹⁵ Bildaufnahmen durchgeführt von Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

bei 2e (siehe Abbildung 6.12) mit Streifen hoher Bewuchsdichte sowie gering besiedelten Bereichen im Vergleich zu reinem Titan aus. Bei der Zusammensetzung 2f ist sogar ein fast vollständiger, flächendeckender Bewuchs auf der modifizierten Oberfläche zu beobachten. Diese beiden Beschichtungen zeigen demnach neben ihrer guten antibakteriellen Wirkung auch recht gute biokompatible Eigenschaften.

Bei den mit Poly(AEMA-co-*hexy*/DMAEMA) modifizierten Oberflächen wird durch den Einbau des biokompatiblen AEMA^[77] eine erhöhte Biokompatibilität erwartet und durch die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung bestätigt (siehe Abbildung 6.10). Die Beschichtungen mit den beiden Zusammensetzungen 4h (74 mol% AEMA) und 4k (mit 34 mol% AEMA) zeigen nach 24 Stunden eine sehr hohe Anzahl adhärenter Zellen vergleichbar mit unbeschichteten Titanoberflächen. Nach 72 Stunden deutet die Besiedlungsdichte auf der Beschichtung 4k mit 100 % auf eine ebenso hohe Proliferationsrate wie auf der Kontrolle hin. Die Beschichtung 4h liegt mit einer Dichte von 80 % etwas darunter. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit dem Homopolymer Poly(AEMA), welches mit 97 % (24 Stunden Inkubation) und 92 % (72 Stunden Inkubation) ebenfalls eine nahezu identisch gute Adhäsion und Proliferation der humanen Dermisfibroblasten im Vergleich zu unbehandeltem Titan aufweist. Wie bereits in Kapitel 4 postuliert, scheint der Einbau des primären Amins tatsächlich eine Verbesserung der Biokompatibilität zu bewirken. Die positive Wirkung von Poly(AEMA) sowohl auf die Adhäsion als auch Proliferation der Zellen spiegelt sich auch in der Zellmorphologie wider. In Abbildung 6.13 zeigen die Aufnahmen von Poly(AEMA) nach 24 Stunden lang gestreckte Zellen, die etwas weniger gut adhärent sind als bei reinem Titan (siehe Abbildung 6.11), nach 72 Stunden ist allerdings kein signifikanter Unterschied mehr zu erkennen (siehe Abbildung 6.12). Die Morphologie der Zellen auf den Beschichtungen mit 4h und 4k bekräftigt ebenfalls die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung. Die Aufnahmen nach 24 Stunden deuten auf gut adhärente, lang gestreckte Zellen auf beiden Beschichtungen hin. Nach 72 Stunden zeigt sich ein Bild mit einer zunehmenden Besiedlungsdichte bei 4h, bei 4k sogar mit einer flächendeckenden Besiedlung mit humanen Dermisfibroblasten. Die hohe Besiedlungsdichte sowie die Morphologie lang gestreckter Zellen untermauern nochmals die guten biokompatiblen Eigenschaften der Beschichtungen. Ein Vergleich der beiden Copolymerzusammensetzungen lässt dabei auf ein erhöhtes Zellwachstum bei der Beschichtung mit einem geringeren Anteil an AEMA schließen. Das Homopolymer Poly(AEMA) weist dagegen ebenso gute biokompatible Eigenschaften auf, so dass schlussfolgernd ein direkter Zusammenhang zwischen dem Anteil an AEMA und der Proliferationsrate anhand dieser Untersuchungen nicht zu erkennen ist. Insgesamt bewirkt der

Einbau des AEMA eine Erhöhung des Zellwachstums und liefert für die Beschichtungen nachweislich eine gute Biokompatibilität.

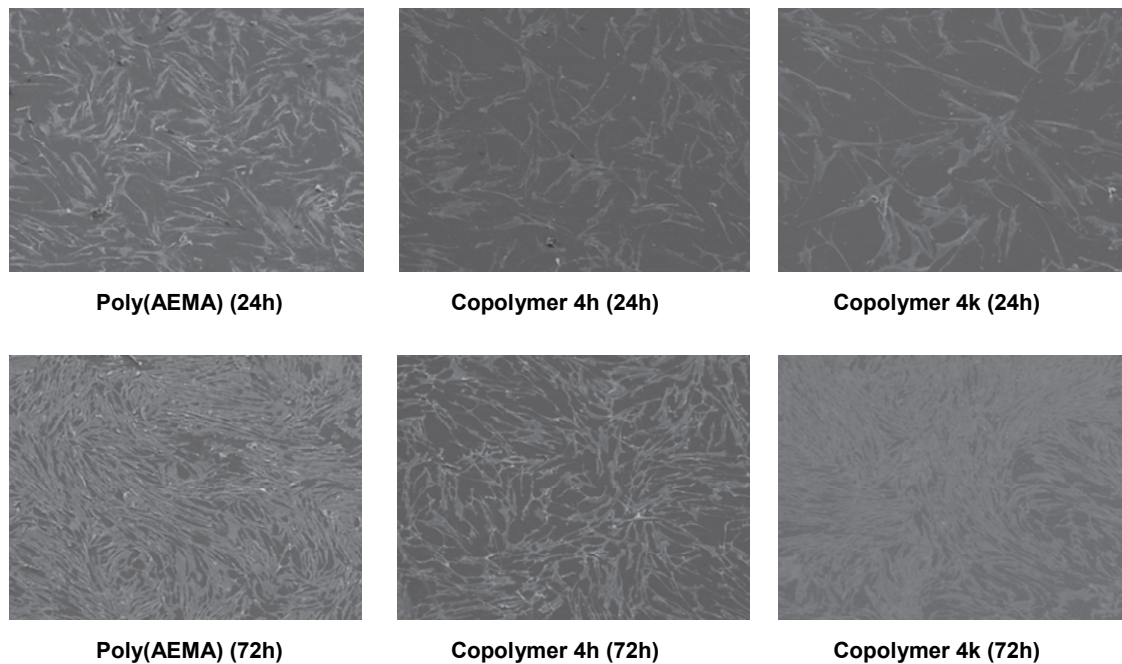


Abbildung 6.13: REM-Aufnahmen adhärenter humaner Dermisfibroblasten nach einer Inkubationszeit von 24 und 72 Stunden mit einer 85fachen Bildvergrößerung.¹⁶

Zusammenfassend zeigen die Untersuchungen deutliche Unterschiede in den biokompatiblen Eigenschaften zwischen dem phosphonathaltigen Poly(DMMEP-co-*hexy*/DMAEMA) (Copolymer 1) und dem aminhaltigen Poly(AEMA-co-*hexy*/DMAEMA) (Copolymer 4). Bei gleichzeitig guter antibakterieller Wirkung ist für die mit 1b und 1c modifizierten Oberflächen eine deutlich reduzierte Adhäsion und Proliferation humaner Dermisfibroblasten zu beobachten. Die Beschichtungen der Zusammensetzungen 4h und 4k zeigen hingegen eine gute Biokompatibilität vergleichbar mit reinem Titan, liefern aber nicht die gewünschte antibakterielle Aktivität (siehe Kapitel 6.2.3). Die Ergebnisse des Copolymers Poly(DMMEP-co-*methyl*/DMAEMA) liefern neben einer guten antibakteriellen Wirkung auch recht gute biokompatible Eigenschaften, so dass die beiden Zusammensetzungen 2e und 2f folglich als sehr vielversprechende Polymerbeschichtungen betrachtet werden können.

¹⁶ Bildaufnahmen durchgeführt von Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

6.5 Einfluss von Sterilisationsverfahren

Unter *In-vitro*-Bedingungen konnte für zwei der in dieser Arbeit synthetisierten Copolymere die gewünschte antibakterielle Wirksamkeit mit zufriedenstellender Biokompatibilität gegenüber humanen Dermisfibroblasten nachgewiesen werden. Diese Copolymere stellen als Beschichtung einen vielversprechenden Ansatz für potenzielle antimikrobielle Oberflächen dar. Für die weitere Entwicklung zur Anwendung auf Implantatoberflächen ist die Untersuchung der antibakteriellen Wirkung unter *In-vivo*-Bedingungen von entscheidender Bedeutung. Eine wichtige Voraussetzung für die Durchführung von *In-vivo*-Untersuchungen ist die Sterilisation der Implantate vor ihrem Einsatz.

Es gibt eine Vielzahl von Sterilisationsverfahren, die für medizinische Produkte eingesetzt werden können. Grundsätzlich wird zwischen physikalischen und chemischen Methoden differenziert.^[152] Die Dampfsterilisation ist ein Beispiel für eine physikalische Methode, wohingegen die Gammasterilisation als chemische Methode bezeichnet wird.

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, inwieweit Sterilisationsprozesse die Polymerbeschichtungen beeinflussen können. Dabei ist vor allem zu klären, ob die Sterilisation eine Auswirkung auf die antibakterielle Wirkung der Polymerbeschichtungen hat. Für die Untersuchungen werden die beiden Verfahren der Dampf- und Gammasterilisation herangezogen. In Tabelle 6.3 sind die hierfür gewählten Bedingungen für beide Methoden einander gegenübergestellt. Die Dampfsterilisation wurde in der Medizinischen Hochschule in Hannover durchgeführt. Die Gammasterilisation unter Einsatz von Gammastrahlung konnte nur industriell erfolgen.¹⁷

Tabelle 6.3: Übersicht der gewählten Bedingungen der eingesetzten Sterilisationsverfahren.

Verfahren	Dampfsterilisation	Gammasterilisation
Behandlung	im Autoklaven mit Wasserdampf	industriell mit Gammastrahlung (Kobalt-60)
Bedingungen	T = 121 °C; t = 21 min	Strahlendosis 28,3 kGy

Anhand der gewählten Methoden und ihrer unterschiedlichen Bedingungen können verschiedene Einflussfaktoren untersucht werden. Mittels der Dampfsterilisation kann analysiert werden, ob die Polymerbeschichtungen und deren Eigenschaften gegenüber dem Einsatz von Wasserdampf und hohen Temperaturen stabil sind. Die Gammasterilisation ist ein Verfahren, bei dem ionisierende Strahlung (Gammastrahlung) zum Einsatz kommt. Dabei

¹⁷ durchgeführt bei bbF Sterilisationsservice GmbH

kann es zur Bildung von Radikalen, infolge von Kettenspaltung, oder durch oxidative Vorgänge zu chemischen Veränderungen innerhalb der Polymerketten kommen.^[152] Zusätzlich wurde bei der Behandlung durch ionisierende Strahlung berichtet, dass strukturelle Unterschiede in Polymeren die Auswirkungen der Sterilisation auf die molekulare Struktur der Polymere beeinflussen. Bei aromatischen Verbindungen in Copolymeren konnte eine hemmende Wirkung gegenüber Oxidation und Radikalbildung beobachtet werden.^[153] Um einen Zusammenhang zwischen der Polymerstruktur und den Auswirkungen einer Sterilisation untersuchen zu können, wird der Fokus auf die in Abbildung 6.14 dargestellten Copolymere gelegt, die sich in den vorherigen *In-vitro*-Untersuchungen als Oberflächenmodifikationen mit den gewünschten Eigenschaften herausgestellt hatten.

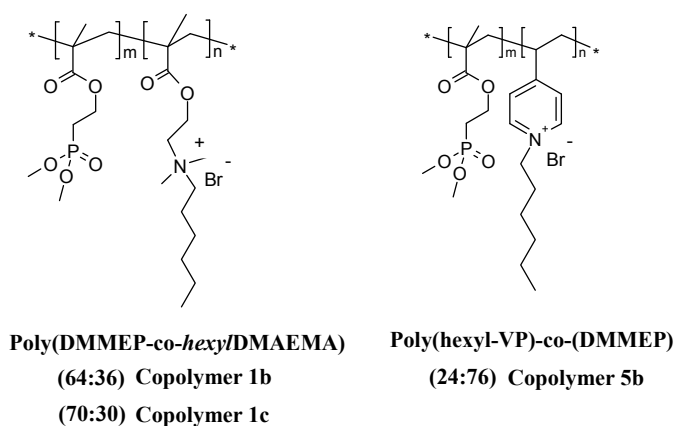


Abbildung 6.14: Ausgewählte Copolymere mit entsprechenden Zusammensetzungen, deren Beschichtungen auf die Auswirkung der Sterilisationsprozesse hin untersucht wurden.

Die Systeme unterscheiden sich durch ihre quartäre Ammoniumverbindung und ermöglichen einen Vergleich zwischen einer alipathischen und einer aromatischen Stickstoffverbindung. Im Vordergrund soll die Untersuchung der Auswirkung der beiden Sterilisationsverfahren auf die Anlagerung der Bakterien und damit auf die antibakterielle Wirkung der Polymerbeschichtung stehen. Daher werden die Zusammensetzung 1b (64 mol% DMMEP) und 1c (70 mol%) DMMEP sowie 5b von Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) ausgewählt, deren Wirksamkeiten nachgewiesen wurden. Neben einem möglichen Einfluss auf die Bakterienadhäsion soll zudem geklärt werden, inwiefern weitere Eigenschaften der Polymerbeschichtung infolge der Sterilisation variieren und somit für eine veränderte Wirksamkeit verantwortlich gemacht werden können. Abbildung 6.15 liefert eine schematische Übersicht der verschiedenen Analysemethoden, die an den drei Copolymerbeschichtungen durchgeführt werden. Es erfolgt dabei ein direkter Vergleich zwischen unbehandelten sowie gamma- und dampfsterilisierten Proben. Dazu werden die

Proben mit den unterschiedlichen Polymeren beschichtet und anschließend zum Teil entsprechend sterilisiert. Zusätzlich wird bei bestimmten Analysemethoden unbeschichtetes Titansubstrat mit in die Versuchreihe integriert.

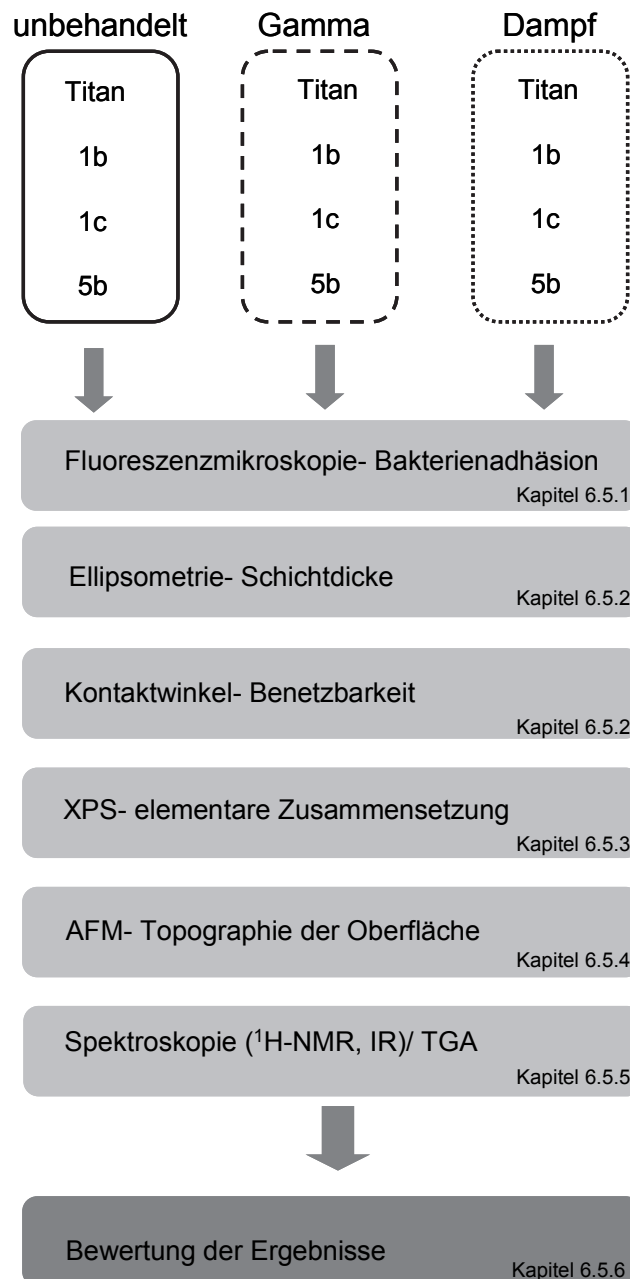


Abbildung 6.15: Schematische Darstellung der verschiedenen Analysemethoden, die an den Copolymerbeschichtungen 1b, 1c sowie 5b durchgeführt werden, um den Einfluss der Sterilisation zu untersuchen.

Die Bestimmung der Schichtdicke mittels Ellipsometrie sowie die Kontaktwinkelmessungen sollen zeigen, ob die Stabilität und Oberflächeneigenschaften des Polymerfilms beeinflusst werden. XPS Untersuchungen sollen Aufschluss darüber geben, ob es zu einer Veränderung der Elementzusammensetzung an der Oberfläche kommt. Anhand von AFM Höhenprofilen können mögliche Veränderungen der Topographie der Oberfläche beobachtet werden. Diese

Untersuchungen erfolgen direkt am Polymerfilm aufgebracht auf Titan. Zusätzlich werden die Polymere als Substanz mittels ^1H -NMR und IR-Spektroskopie sowie thermogravimetrischer Analyse (TGA) charakterisiert. Die Ergebnisse der jeweiligen Untersuchungsmethoden werden in den folgenden Unterkapiteln diskutiert.

6.5.1 Ergebnisse zur Bakterienadhäsion in Abhängigkeit von der Sterilisationsmethode

Die Untersuchungen der antibakteriellen Wirkung der Beschichtungen wurden mit einem Screening am Keim *Staphylococcus epidermidis* vorgenommen. Die fünfstündige Inkubationsdauer sowie die lebend/tot-Färbung der vorherigen Experimente wurden beibehalten und ausschließlich vollbeschichtete Proben hergestellt, da der Einfluss eines Sterilisationsverfahrens auf die Polymerbeschichtungen im Fokus stand. Neben der qualitativen Untersuchung der Bakterienadhäsion mittels Fluoreszenzmikroskopie wurde eine Quantifizierung der Ergebnisse mit jeweils fünf Plättchen pro Oberfläche vorgenommen. Die Bakterienzahl wurde, wie bei den teilbeschichteten Proben in Kapitel 6.3.3 beschrieben, anhand verschiedener Ausschnitte bestimmt und die prozentuale Reduktion im Bezug zur reinen Titanoberfläche angegeben.

In Abbildung 6.16 sind die Ergebnisse der Fluoreszenzmikroskopie bezüglich der Anlagerung der Bakterien auf den unterschiedlichen Oberflächen gegenübergestellt. Bei unbeschichteten Titansubstraten ist eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien zu erkennen. Für die Titansubstrate nach der Sterilisation ergeben sich keine Unterschiede, so dass angenommen werden kann, dass die Sterilisation unabhängig vom gewählten Verfahren keine Auswirkung auf die Adhäsion der Bakterien auf der reinen Titanoberfläche hat.

Die Aufnahmen für die mit Copolymer beschichteten Substrate zeigen hingegen einen Unterschied in der Anlagerung der Bakterien. Wie erwartet ist bei den unbehandelten Proben der Beschichtung 1b und 1c keine Adhäsion von Bakterien zu erkennen. Die Aufnahmen der dampfsterilisierten Proben weisen ebenfalls keine Anlagerung von Bakterien auf, qualitativ ist keine Beeinträchtigung in der Reduktion der Bakterien zu erkennen. Dagegen scheint die Gammasterilisation einen deutlich negativen Einfluss auf die antibakterielle Wirkung der Beschichtungen 1b und 1c zu haben. Die Aufnahmen der gammasterilisierten Proben deuten auf eine flächendeckende und gleichmäßige Besiedlung von Bakterien vergleichbar mit der auf reinen Titanoberflächen hin.

Bei der unbehandelten Probe der Copolymerbeschichtung 5b sind einzelne Aggregate von Bakterien zu erkennen. Für die dampfsterilisierte Probe werden einzelne adhärente Bakterien gefunden. Bei der gammasterilisierten Probe ist im oberen Bereich der Aufnahme eine

vermehrte Ansiedlung einzelner Bakterien im Vergleich zu der dampfsterilisierten Probe festzustellen. Im Gegensatz zu der Situation bei den beiden Beschichtungen 1b und 1c scheint der Effekt der Sterilisation auf die Bakteriadhäsion hier weniger stark zu sein.

Insgesamt deuten die Ergebnisse der qualitativen Bestimmung auf eine deutlich stärkere Beeinträchtigung der antibakteriellen Wirkung der Copolymerbeschichtungen durch die Gammasterilisation hin. Dabei sind Unterschiede zwischen den beiden Copolymersystemen zu erkennen. Eine Auswirkung der Dampfsterilisation ist dagegen bei allen Beschichtungen unter Vergleich zwischen unbehandelter und dampfsterilisierter Probe der jeweiligen Beschichtung nicht festzustellen.

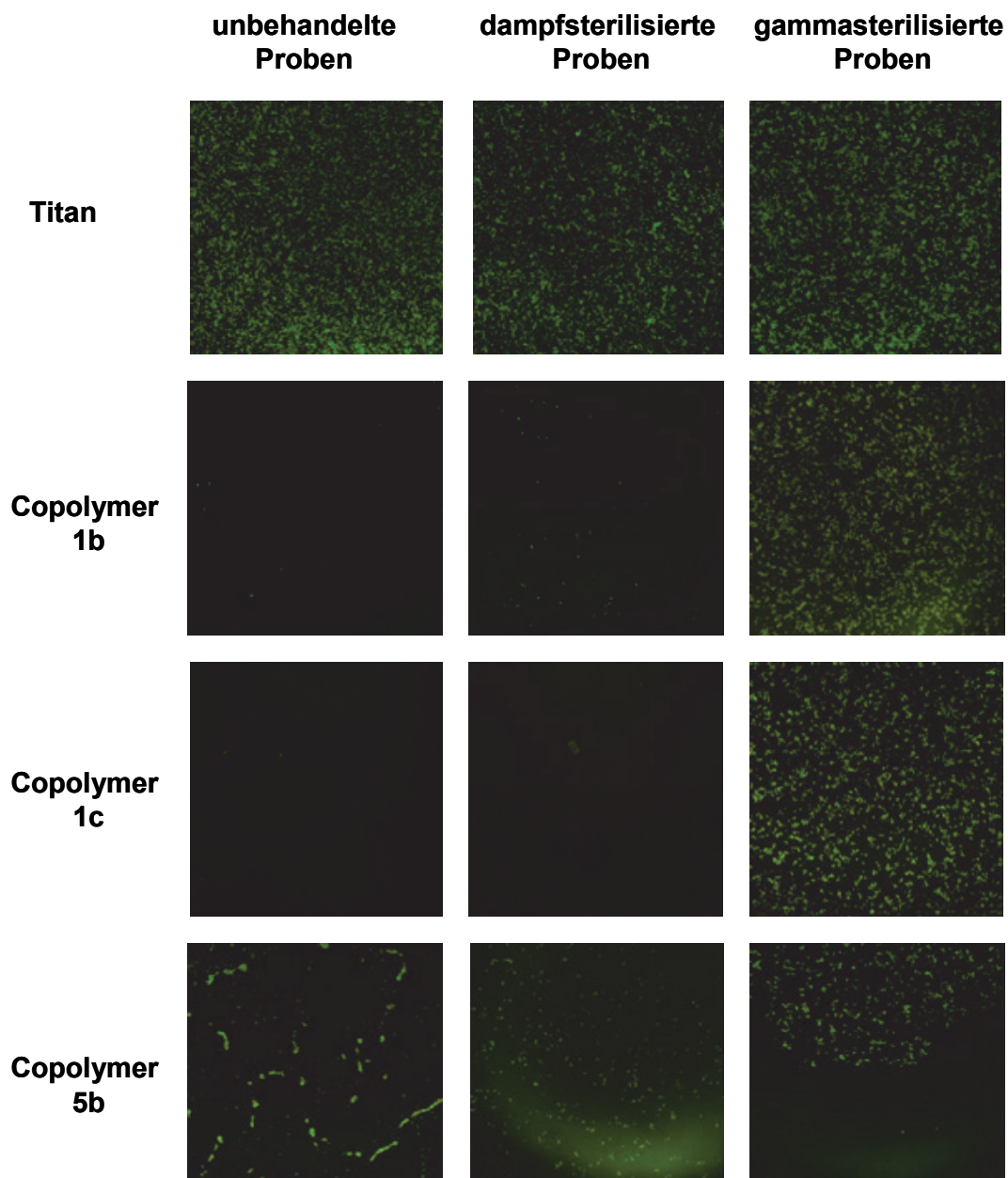


Abbildung 6.16: Anlagerung von Bakterien auf unbehandelten Proben mit verschiedenen Polymeren und Titan (Referenz) sowie Auswirkung auf die Anlagerung nach unterschiedlichen Sterilisationsverfahren.

Zwischen den zu analysierten Proben derselben Behandlung kann es vereinzelt zu Unterschieden in der Adhäsion der Bakterien kommen. Um das Ausmaß der Sterilisation auf die antibakterielle Wirkung der Polymerbeschichtungen besser zu beurteilen, erfolgte zusätzlich eine quantitative Bestimmung. Die Ergebnisse für die drei Copolymerbeschichtungen sind in Tabelle 6.4 in Abhängigkeit des Sterilisationsverfahrens dargestellt. Die quantitative Bestimmung für die dampfsterilisierten Proben weist auf keine signifikante Veränderung in der Reduktion der Bakterien hin und stimmt mit den Ergebnissen aus der qualitativen Auswertung gut überein. Nach der Dampfsterilisation zeigen die Copolymerbeschichtungen 1b und 1c weiterhin eine Reduktion der Bakterien um 95 % bzw. 97 % sowie im Fall der Beschichtung mit Copolymer 5b die auch zuvor erreichten 65 %. Die Ergebnisse nach der Gammasterilisation weisen hingegen eine deutliche Abnahme der Reduktion der Bakterienadhäsion auf nur 40 % für 1b und auf sogar 35 % für 1c auf. Die weiterhin bestehende antibakterielle Wirkung für das Copolymer 5b mit einer Reduktion von 65 % untermauert die qualitative Beurteilung, dass die Gammasterilisation die Wirksamkeit der Beschichtung 5b nicht negativ beeinflusst. Im Vergleich zu den beiden Beschichtungen 1b und 1c zeigt die mit 5b modifizierte Oberfläche eine Anlagerung einzelner Bakterien (siehe Abbildung 6.16). Somit deuten die Aufnahmen geringe Unterschiede in der Bakterienadhäsion zwischen den Beschichtungen an, was sich auch in der quantitativen Bestimmung der Reduktion widerspiegelt.

Tabelle 6.4: prozentuale Reduktion der Bakterien durch die jeweiligen Beschichtungen in Abhängigkeit der Behandlung.

Beschichtung	Reduktion der Bakterien der Proben [%]		
	unbehandelt	dampfsterilisiert	gammasterilisiert
Copolymer 1b	95	95	40
Copolymer 1c	97	97	35
Copolymer 5b	65	65	65

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen zur Bakterienadhäsion, dass die Gammasterilisation die antibakterielle Wirkung der Polymerbeschichtungen 1b und 1c stark herabsetzt, wohingegen bei Copolymer 5b dieser Effekt quantitativ nicht nachweisbar ist. Die beiden Copolymere unterscheiden sich in ihrer quartären Ammoniumverbindung. Es wurde beobachtet, dass die Auswirkung von Gammasterilisation auf die molekulare Struktur der Polymere unterschiedlich stark sein kann. Bei aromatischen Verbindungen wurde weniger eine Oxidation oder Radikalbildung infolge der Gammasterilisation beschrieben.^[153] Bei den

Beschichtungen 5b und 1b bzw. 1c könnten die strukturellen Unterschiede eine mögliche Erklärung für die Auswirkung der Gammasterilisation sein. Die Beschichtung des Copolymers 5b mit einer aromatischen Stickstoffverbindung scheint durch Gammastrahlung weniger beeinflusst zu werden. Wohingegen bei den Beschichtungen 1b und 1c, die eine aliphatische Stickstoffverbindungen besitzen, die Gammasterilisation die antibakterielle Wirkung negativ beeinflusst. Ob tatsächlich ein Zusammenhang zwischen der Struktur im Copolymer und der unterschiedlich starken Auswirkung der Gammasterilisation besteht, soll anhand der weiteren Analysemethoden untersucht werden (siehe Abbildung 6.15).

Bei allen untersuchten Proben konnte jedoch kein Einfluss der Dampfsterilisation auf die Reduktion der Bakterien nachgewiesen werden. Dieses Verfahren erweist sich somit als geeignete Sterilisationsmethode in Hinblick auf ausstehende *In-vivo*-Untersuchungen ohne dabei die antibakterielle Aktivität der Polymerbeschichtungen zu beeinflussen.

6.5.2 Ergebnisse zu Schichtdicke und Kontaktwinkel

Die Charakterisierung der Polymerfilme erfolgte vor und nach der Sterilisation an derselben Probe. Die Ergebnisse der Schichtdickeuntersuchungen sind in Tabelle 6.5 für die jeweiligen Beschichtungen in Abhängigkeit des Sterilisationsverfahrens dargestellt. Da bei der Herstellung der Polymerfilme geringe Abweichungen in den Schichtdicken innerhalb einer Messreihe nicht ausgeschlossen werden können, werden zur Beurteilung eines möglichen Einflusses die Werte der Schichtdicke nur innerhalb einer Charge von Beschichtungen verglichen. Die Änderungen der Filmdicke um 0,1 nm bei Copolymer 1b sowie um 0,3 nm bei 1c liegen im Bereich der Messungenauigkeit des Ellipsometers. Auch die Abweichung von 0,5 nm bei Copolymer 5b lässt nicht auf eine signifikante Änderung der Schichtdicke schließen.

Tabelle 6.5: Schichtdicke der beschichteten Proben vor und nach dem Sterilisationsprozess.

Beschichtung	Schichtdicke [nm]			
	Gammasterilisation		Dampfsterilisation	
	vor	nach	vor	nach
Copolymer 1b	4,1 ± 0,3	4,0 ± 0,3	6,3 ± 0,5	5,5 ± 1,2
Copolymer 1c	5,0 ± 0,4	5,3 ± 0,6	5,5 ± 0,6	4,5 ± 0,4
Copolymer 5b	4,3 ± 0,1	4,8 ± 0,2	4,9 ± 0,5	4,8 ± 0,5

Nach der Dampfsterilisation ändert sich die Schichtdicke bei der Beschichtung 1b um 0,8 nm. Das Copolymer 1c deutet mit einer Abnahme der Filmdicke um 1,0 nm die höchste Änderung an, liegt aber gerade noch im Fehlerbereich der Messung. Die Abweichung der Filmdicke von

0,1 nm bei Copolymer 5b zeigt nahezu identische Werte vor und nach der Dampfsterilisation, so dass auch hierbei kein Effekt zu beobachten ist. Insgesamt liegen die Abweichungen im Bereich der Messungenauigkeit für das Ellipsometer und werden daher nicht als signifikant eingeschätzt. Der Sterilisationsprozess hat somit keinen signifikanten Einfluss auf die Schichtdicke.

Im Vergleich dazu zeigen die Kontaktwinkelmessungen eine deutliche Abnahme der Werte nach der Sterilisation. In Abbildung 6.17 sind nur die Daten des vorderen (adv) Kontaktwinkels der verschiedenen Polymerbeschichtungen dargestellt. Bei der Beschichtung 1b ist eine Abnahme von 5° (dampfsterilisiert) und sogar von 16° (gammasterilisiert) zu beobachten. Bei dem Polymerfilm 1c ist nach der Dampfsterilisation die Abnahme um 1° nicht signifikant, bei den gammasterilisierten Proben mit 12° größenordnungsmäßig jedoch mit 1b vergleichbar. Die Beschichtung des Copolymers 5b besitzt insgesamt einen höheren Kontaktwinkel, so dass vermutlich die Abnahme von 62° auf 53° nach der Dampfsterilisation stärker ausgeprägt ist, wie auch eine Abnahme um 17° nach der Gammasterilisation zeigt.

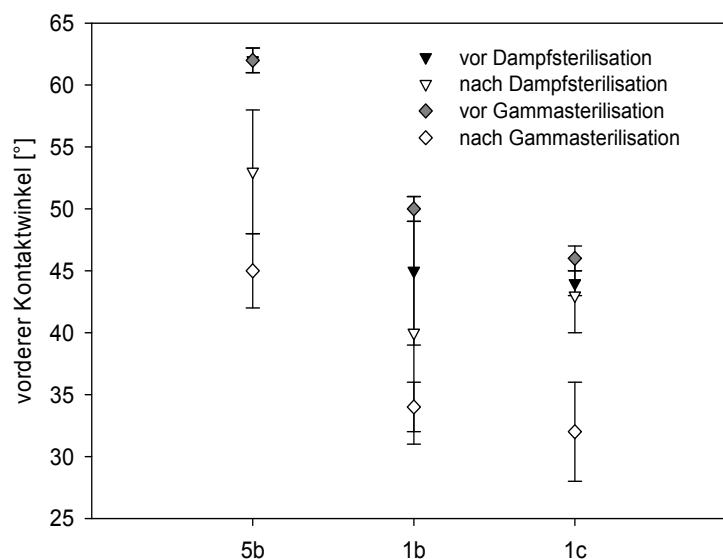


Abbildung 6.17: Darstellung des vorderen Kontaktwinkels von beschichteten Proben mit Copolymer 5b (Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP)), Copolymer 1b und 1c (Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) vor und nach dem jeweiligen Sterilisationsverfahren.

Bei dem Copolymer 1 (Beschichtung 1b und 1c) sind die Änderungen des Kontaktwinkels nach der Dampfsterilisation nur gering und nicht signifikant. Die Änderung des Kontaktwinkels bei der Beschichtung mit Copolymer 5b lässt eher auf einen Effekt durch Dampfsterilisation schließen. Nach der Gammasterilisation kann zwischen den beiden Copolymeren 1 und 5 jedoch nicht differenziert werden. Die Gammasterilisation bewirkt bei

allen drei Polymerbeschichtungen eine signifikante Abnahme des Kontaktwinkels. Die Behandlung scheint eine Änderung der Benetzungseigenschaften zu bewirken.

Die Änderung des Kontaktwinkels könnte durch den Einfluss der unterschiedlichen Bedingungen während der Sterilisation erklärt werden. Bei der Dampfsterilisation kann durch den Einsatz von Wasserdampf physisorbiertes Wasser in die Polymerstruktur eingelagert werden. Dieser Effekt hätte einen Anstieg der Hydrophilie der Oberfläche zufolge, was eine Abnahme des Kontaktwinkels bewirken würde. Bei dem Einsatz von Gammastrahlung können oxidative Vorgänge eine Änderung der Oberflächeneigenschaften bewirken.^[152] Untersuchungen an polyethylenhaltigen (PEG) Beschichtungen haben gezeigt, dass die Gammasterilisation eine Abnahme des Kontaktwinkels bewirkt. Anhand von XPS Untersuchungen wurden Carbonyl- und Carboxylgruppen detektiert und über die Änderungen der Anteile der funktionellen Gruppen auf eine Oxidation geschlossen.^[154] In den Arbeiten von FLEITH et al. wurde der Einfluss verschiedener Sterilisationsverfahren auf self assembled Monolayer untersucht.^[155] Ein Vergleich nach der Behandlung im Autoklaven (Dampf) sowie durch Gammastrahlung zeigte, dass der Kontaktwinkel unter Anwendung beider Techniken abnahm. Die Gammasterilisation bewirkte dabei eine stärkere Änderung des Kontaktwinkels im Vergleich zu der Dampfsterilisation. Demnach wird zusätzlich bestätigt, dass die Abnahme des Kontaktwinkels der hier untersuchten Copolymerbeschichtungen auf den Einfluss der Sterilisation zurückzuführen ist. Ein Zusammenhang zwischen möglichen strukturellen Veränderungen innerhalb der Polymerketten und der Änderung der Oberflächeneigenschaften kann an dieser Stelle nur spekuliert werden. Untersuchungen mittels XPS können aber helfen, die chemischen Veränderungen in der Beschichtung zu analysieren. Die Ergebnisse werden im Folgenden diskutiert.

6.5.3 Ergebnisse der XPS Untersuchungen

Es wurden XPS Untersuchungen exemplarisch jeweils an einer unbehandelten, dampf- und gammasterilisierten Probe durchgeführt, die mit dem jeweiligen Copolymer Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) 1b und 1c sowie Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) 5b beschichtet waren. Neben den drei Copolymerbeschichtungen wurde auch unbeschichtetes Titansubstrat (Ti6Al4V-Substrat) untersucht. Ziel war es anhand eines Vergleichs zwischen unbehandelten und dampf- bzw. gammasterilisierten Proben über mögliche Änderungen in der Elementarzusammensetzung der Oberfläche auf Veränderungen in den funktionellen Gruppen im Copolymer schließen zu können.

Ergebnisse für unbeschichtete Titansubstrate

In Tabelle 6.6 sind zunächst die Daten für die reinen Titansubstrate dargestellt. Bei allen Proben wurde neben Titan, Aluminium und Sauerstoff, bedingt durch die Legierungsbestandteile und die Ausbildung einer spontanen Titan(oxid)schicht,^[55] auch Kohlenstoff und Stickstoff detektiert. Wie in Kapitel 5.1.2 diskutiert, werden Kohlenstoff und Stickstoff aufgrund von Kontamination häufig auf Substratoberflächen beobachtet. Die Atomkonzentrationen der jeweiligen Elemente zeigen für die unbehandelte sowie gammasterilisierte Probe vergleichbare Werte. Die geringen Abweichungen liegen im Bereich des Messfehlers. Das Titan zu Sauerstoff Verhältnis ist mit 1:3,7 (unbehandelt) und 1:4,0 (gammasterilisiert) vergleichbar. Die dampfsterilisierte Probe unterscheidet sich durch einen höheren Anteil an detektierten Titan von 17 % und einem geringeren Kohlenstoffanteil von 25 % im Vergleich zu der unbehandelten bzw. gammasterilisierten Probe. Auffällig ist der fast um die Hälfte geringere Anteil an Stickstoff mit 0,8 % im Vergleich zu 1,4 % (unbehandelt) bzw. 1,5 % (gammasterilisiert). Die verhältnismäßig geringeren Anteile von Kohlenstoff und Stickstoff lassen vermuten, dass auf der dampfsterilisierten Probe weniger Verunreinigungen vorliegen. Zugleich würde diese Annahme den höher detektierten Anteil an Titan erklären. Das Titan zu Sauerstoff Verhältnis mit 1:3,2 würde eine dickere Titan(oxid)schicht vermuten lassen, dagegen spricht allerdings das höhere Titansignal.

Tabelle 6.6: XPS Daten zur elementaren Zusammensetzung aus XPS Messungen von unbeschichteten Ti6Al4V-Substraten: unbehandelt, dampf- und gammasterilisiert.

Probe	Atomkonzentration [%]					O 1s [%]		
	C 1s	O 1s	Ti 2p	N 1s	Al 2p	530 eV	531,5 eV	533,7 eV
unbehandelt	30,3	50,3	13,5	1,4	4,6	54,9	43,8	1,3
gammasterilisiert	30,8	51,1	12,7	1,5	3,9	58,4	39,7	1,8
dampfsterilisiert	25,1	53,2	16,8	0,8	4,2	68,8	21,0	10,2

Auf der unbeschichteten Substratoberfläche befinden sich Sauerstoffverbindungen, die aus der Titan(oxid)schicht sowie aus Verunreinigungen hervorgehen. Über die Veränderung von funktionellen Gruppen der Sauerstoffverbindungen können mögliche Änderungen der Substratoberfläche beobachtet werden. Dazu werden die Daten des hochaufgelösten O 1s Spektrums herangezogen (siehe Tabelle 6.6). Es ergeben sich drei Signale mit unterschiedlichen Bindungsenergien, die entsprechenden Sauerstoffverbindungen zugeordnet werden können. Die Bindungsenergie bei 530 eV ist charakteristisch für die Titan(oxid)schicht. Eine Verschiebung zu höheren Bindungsenergien von 531,5 eV werden für Carbonylverbindungen, sowie zu 533,7 eV für Carboxyl- aber auch Etherverbindungen

beschrieben.^[141] Diese Signale sind auf Kohlenstoffverbindungen zurückzuführen, die als Verunreinigungen adsorbiert vorliegen (siehe Kapitel 5.1.2). Die Daten werden bezüglich der Änderung bestimmter funktioneller Gruppen nicht im Detail diskutiert. Die verschiedenen Anteile der Signale sollen nur dahingehend beurteilt werden, ob zwischen der unbehandelten Substratoberfläche und der gamma- bzw. dampfsterilisierten Probe Unterschiede zu erkennen sind.

Ein Vergleich der beiden Sterilisationsverfahren zeigt eine unterschiedliche Verteilung der Bindungsenergien. Die gammasterilisierte Probe liefert mit 58 % (530 eV) einen vergleichbaren Anteil für die Titan(oxid)schicht wie die unbehandelte mit 55 %. Der Anteil bei der dampfsterilisierten Probe mit 69 % liegt deutlich höher, was zugleich die Vermutung einer dickeren Titan(oxid)schicht bekräftigt bzw. weniger Verunreinigungen durch Kohlenstoffverbindungen. Die Ergebnisse bei der Bindungsenergie von 531,5 eV deuten mit den Anteilen von 44 % (unbehandelt) und 40 % (gammasterilisiert) sowie bei 533,7 eV mit 1,3 % bzw. 1,8 % lediglich auf geringe Abweichungen hin. Bei der dampfsterilisierten Probe sind dagegen deutliche Unterschiede festzustellen. Der Anteil mit 21 % bei 531,5 eV ist nahezu um die Hälfte geringer als bei der unbehandelten und gammasterilisierten Probe. Sogleich ist der Anteil des Signals bei 533,7 eV mit 10 % um ein zehnfaches höher. Die verschiedenen Signalintensitäten der Sauerstoffverbindungen lassen signifikante Unterschiede zwischen Gamma- und Dampfsterilisation erkennen. Eine Verschiebung zu hohen Bindungsenergien von 533,7 eV kann durch Hydroxygruppen, sowie der Bildung dieser durch chemisorbiertes Wasser beschrieben werden.^[141, 156] Es kann vermutet werden, dass während der Dampfsterilisation eine chemische Reaktion zwischen dem Wasserdampf und der Substratoberfläche bzw. der vorhandenen Kohlenstoffverbindungen stattfindet. Somit scheint nicht nur eine Adsorption des Wassers auf der Substratoberfläche, wie zunächst vermutet, sondern auch eine Chemisorption eine mögliche Erhöhung der Hydrophilie zu bewirken (siehe Kapitel 6.5.2).

Bei den Kohlenstoffverbindungen handelt es sich um Verunreinigungen auf der Oberfläche, so dass die Daten des hochaufgelösten C 1s Spektrums für die unbeschichteten Titansubstrate nicht diskutiert werden.

Zwischen der unbehandelten und gammasterilisierten Probe können insgesamt keine signifikanten Unterschiede bei der elementaren Zusammensetzung beobachtet werden. Somit scheint die Sterilisation keine Auswirkung auf die Zusammensetzung der reinen Titanoberfläche zu haben. Bei der dampfsterilisierten Probe ist hingegen eine Änderung der Elementzusammensetzung festzustellen. So kann vermutet werden, dass infolge einer

möglichen Reaktion zwischen dem Wasserdampf und der Titanoberfläche, eine Veränderung der Zusammensetzung der Substratoberfläche bewirkt wird. Zugleich würde diese Annahme die Unterschiede in den Signalintensitäten für Sauerstoff erklären.

Ergebnisse der Copolymerbeschichtungen

Für die Interpretation der Untersuchungen an den beschichteten Proben wird zunächst die elementare Zusammensetzung der Oberflächen betrachtet. Anschließend werden die Daten der hochaufgelösten Spektren herangezogen, um mögliche Veränderung an funktionellen Gruppen zu ermitteln. Die Ergebnisse der drei Polymerbeschichtungen sind in Tabelle 6.7 in Abhängigkeit der Behandlung dargestellt. Die Werte wurden um die Titan(oxid)schicht korrigiert (siehe Kapitel 5.1.2), um nur die relativen Anteile der Polymerbeschichtung zu betrachten. Um mögliche Änderungen der elementaren Zusammensetzung der Oberfläche zu beurteilen, wurden verschiedene Verhältnisse der Elemente zueinander bestimmt.

Tabelle 6.7: Daten zur elementaren Zusammensetzung aus XPS Messungen sowie ermittelte Verhältnisse der Elemente von beschichteten Proben mit Copolymer 1b, 1c und 5b unbehandelt, gamma- und dampfsterilisiert.

Beschichtung	Probe	Atomkonzentration [%]				Verhältnis		
		C 1s	O 1s	N 1s	P 2p	C/N	P/N	C/O
1b	unbehandelt	64,6	27,7	3,4	4,3	19,0	1,3	2,3
	gammasterilisiert	61,3	30,5	3,3	4,8	18,6	1,5	2,0
	dampfsterilisiert	64,2	28,6	2,6	4,7	24,7	1,8	2,2
1c	unbehandelt	55,9	36,6	3,0	4,6	18,6	1,5	1,5
	gammasterilisiert	58,7	33,6	2,9	4,9	20,2	1,7	1,7
	dampfsterilisiert	69,9	24,7	1,9	3,5	36,8	1,8	2,8
5b	unbehandelt	65,0	27,4	1,9	5,6	34,2	2,9	2,4
	gammasterilisiert	62,7	30,0	2,2	5,0	28,5	2,3	2,1
	dampfsterilisiert	73,3	21,8	1,3	3,6	56,4	2,8	3,4

Die Beschichtung des Copolymers 1b liefert für die Elemente Kohlenstoff und Sauerstoff für alle Proben tendenziell vergleichbare Werte, was sich auch im Kohlenstoff zu Sauerstoff Verhältnis (C/O) von 2,3 (unbehandelt), 2,0 (gammasterilisiert) und 2,2 (dampfsterilisiert) zeigt. Der detektierte Phosphoranteil mit 4,3 % liegt bei der unbehandelten Probe etwas unter dem Anteil nach der jeweiligen Sterilisation mit 4,8 % (gammasterilisiert) und mit 4,7 % (dampfsterilisiert). Diese Änderungen liegen im Bereich der Messungenauigkeit und werden nicht weiter diskutiert. Insgesamt liefern alle drei Proben den Nachweis von Phosphor im Copolymer, was auf eine intakte Polymerbeschichtung nach der Sterilisation hindeutet.

Bei der Polymerbeschichtung 1c, die sich in der Copolymerzusammensetzung von 1b unterscheidet, ist zwischen den Werten der unbehandelten und gammasterilisierten Probe kein signifikanter Unterschied zu erkennen, wie das C/O-Verhältnis mit 1,5 bzw. 1,7 andeutet. Nach der Dampfsterilisation lässt sich jedoch eine Zunahme des Kohlenstoffanteils um 14 % sowie eine Abnahme des Sauerstoffanteils um 12 % beobachten. Gleichzeitig ist der Anteil an Phosphor bei der dampfsterilisierten Probe mit 3,5 % geringer als bei dem unbehandelten Substrat mit 4,6 % bzw. 4,9 % (gammasterilisiert).

Trotz struktureller Unterschiede zeigt die Beschichtung 5b von Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) ein ähnliches Verhalten wie die Beschichtung 1c. Nach der Dampfsterilisation sind die Unterschiede zu der unbehandelten Probe, mit einer Zunahme des Kohlenstoffanteils um 8 % und einer Abnahme von 5 % für Sauerstoff, insgesamt jedoch weniger stark ausgeprägt. Zudem zeigt die dampfsterilisierte Probe von 5b einen um 1,4 % geringeren Anteil für Phosphor. Tendenziell lässt sich eine vergleichbare Änderung der elementaren Zusammensetzung der Oberfläche bei beiden Polymerbeschichtungen feststellen. Trotz eines geringeren Anteils an Phosphor wird das Element als Bestandteil des Copolymers auf der Oberfläche nachgewiesen, so dass auch bei diesen Polymerfilmen die Beschichtung weiterhin intakt zu sein scheint. Es kann jedoch nicht geklärt werden, warum die Änderungen nicht bei allen drei dampfsterilisierten Beschichtungen vergleichbar sind. Die Proben wurden zum selben Zeitpunkt mittels XPS untersucht, so dass Unterschiede durch die Messung bzw. Lagerung selbst ausgeschlossen werden können. Insgesamt lassen die Resultate der XPS Untersuchungen aber vermuten, dass die Dampfsterilisation zumindest eine stärkere Auswirkung auf die elementare Zusammensetzung hat. Diese Annahme wird vor allem unter Einbeziehung des Stickstoffanteils deutlich, da bei allen drei Beschichtungen der Anteil nach der Dampfsterilisation signifikant auf 2,6 % (1b), 1,9 % (1c) und 1,3 % (5b) abnimmt und folglich das Kohlenstoff zu Stickstoff (C/N) Verhältnis ansteigt.

Zur weiteren Interpretation werden die hochaufgelösten C 1s Spektren herangezogen. Die hohe Intensität der dampfsterilisierten Proben ist bei allen Messungen durch die vorgenommenen Einstellungen bedingt. Da die Intensität unabhängig von der Verteilung der Anteile für die verschiedenen Bindungsenergien innerhalb eines Spektrums ist, wird dieser Unterschied nicht näher diskutiert. Das Spektrum von Copolymer 1b in Abbildung 6.18 zeigt Unterschiede in der Verteilung der Signale nach der Sterilisation. Eine quantitative Zuordnung liefert bei der Bindungsenergie von 285 eV für alipathische Kohlenstoffverbindungen Anteile von 63 % (unbehandelt), 54 % (gammasterilisiert) und 55 % (dampfsterilisiert). Der Anteil bei 289 eV, charakteristisch für Carbonylverbindungen,

steigt von 7 % (unbehandelt) auf 11 % (gammasterilisiert) bzw. 12 % (dampfsterilisiert) an (siehe Tabelle 6.8). Die Ergebnisse deuten auf eine Verschiebung des Anteils an aliphatischen Kohlenstoffverbindungen zu höheren Bindungsenergien nach beiden Sterilisationsverfahren hin.

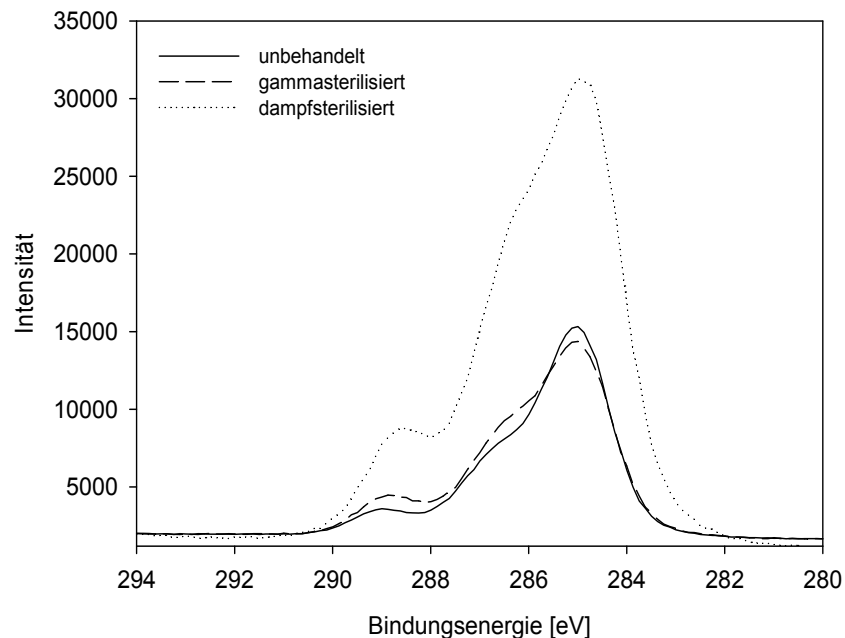


Abbildung 6.18: Hochauflöstes C 1s Spektrum von Copolymer 1b unbehandelt sowie nach Gamma- und Dampfsterilisation.

Das hochauflöste C 1s Spektrum von Copolymer 1c in Abbildung 6.19 links lässt anhand des Verlaufs auf eine identische Verteilung der Signale zwischen der unbehandelten und gammasterilisierten Probe schließen. Im Bereich der Bindungsenergie von 289 eV liegen die Spektren aller drei Proben übereinander. Durch das ausgeprägte Signal der dampfsterilisierten Probe bei 285 eV sollte allerdings der Anteil bei 289 eV geringer, als bei den anderen beiden Proben, ausfallen. Die quantitative Bestimmung der jeweiligen Anteile in Tabelle 6.8 spiegelt die Verhältnisse im Spektrum gut wider. Die Werte für die unbehandelte und gammasterilisierte Probe sind bei 285 eV mit 51 % bzw. 49 % sowie bei 286 eV mit 35 % (unbehandelt) bzw. 37 % (gammasterilisiert) vergleichbar. Die dampfsterilisierte Probe verzeichnet wie erwartet mit 62 % einen signifikant höheren Anteil für die aliphatischen Kohlenstoffverbindungen bei 285 eV, wohingegen der Anteil bei 286 eV mit 28 % verhältnismäßig gering ist. Der Anteil für die Carbonylverbindungen bei 289 eV ist wie vermutet kleiner, allerdings ist der Unterschied mit 11 % (dampfsterilisiert) im Vergleich zu 15 % (unbehandelt) und 14 % (gammasterilisiert) weniger stark ausgeprägt.

Die beiden Copolymerbeschichtungen 1b und 1c unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung. Allerdings deuten die Ergebnisse der XPS Untersuchungen auf eine unterschiedliche Änderung der Anteile an funktionellen Gruppen hin. Bei Copolymer 1b steigen die Anteile von funktionellen Gruppen der Carbonyl- und Carboxylverbindungen und lassen auf einen deutlichen Einfluss durch die Sterilisationsverfahren schließen. Die Beschichtung 1c zeigt hingegen deutliche Unterschiede zwischen den beiden Sterilisationsmethoden, die nicht in den Trend von 1b passen.

Tabelle 6.8: Anteile der verschiedenen Signale im hochaufgelösten Kohlenstoff (C 1s) Spektrum der jeweiligen Beschichtungen in Abhängigkeit der Behandlung.

Beschichtung	Probe	C 1s [%]		
		285 eV	286 eV	289 eV
1b	unbehandelt	62,9	30,2	6,9
	gammasterilisiert	54,1	35,3	10,6
	dampfsterilisiert	55,0	32,6	12,4
1c	unbehandelt	50,5	35,4	14,6
	gammasterilisiert	49,0	36,8	14,3
	dampfsterilisiert	61,9	27,5	10,7
5b	unbehandelt	67,7	24,6	7,7
	gammasterilisiert	60,9	27,9	11,2
	dampfsterilisiert	70,9	20,2	8,9

Das C 1s Spektrum der Beschichtung von Copolymer 5b verzeichnet geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Proben (siehe Abbildung 6.19 rechts). Der Anteil bei 285 eV liegt mit 68 % für die unbehandelte Probe etwas über dem Wert von 61 % für die gammasterilisierte Probe, wohingegen der Anteil mit 71 % für die dampfsterilisierte Probe nochmals höher ist (siehe Tabelle 6.8).

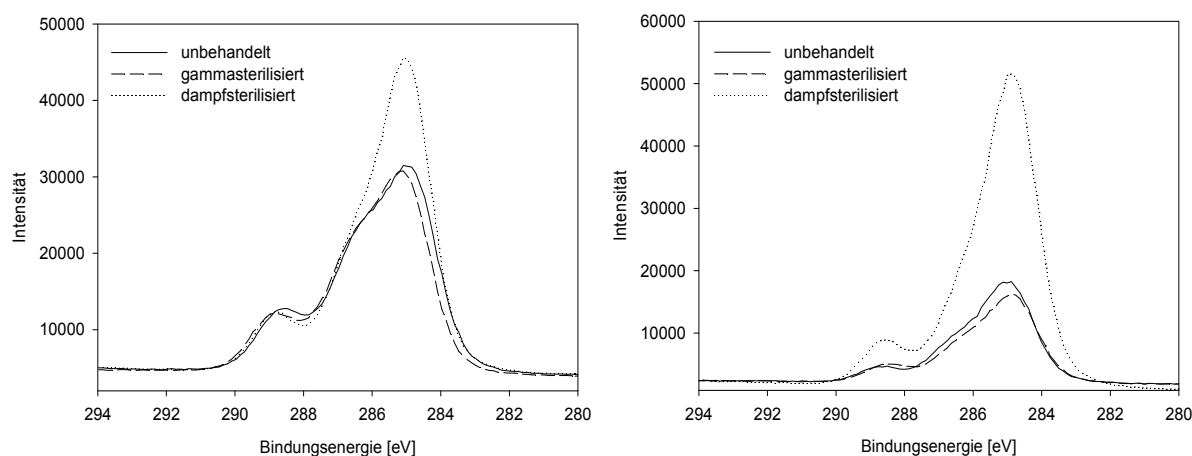


Abbildung 6.19: Hochaufgelöstes C 1s Spektrum von beschichteten Proben in Abhängigkeit der Behandlung: Copolymer 1c (links), Copolymer 5b (rechts).

Die Unterschiede zwischen den beiden Sterilisationsverfahren lassen sich zusätzlich an den Werten für die Bindungsenergien bei 286 eV und 289 eV ausmachen. Für die gammasterilisierte Probe liegt der Anteil mit 28 % (286 eV) und 11 % (289 eV) über dem Anteil der dampfsterilisierten Probe mit 20 % (286 eV) bzw. 9 % (289 eV).

Die Ergebnisse für die Beschichtung 5b zeigen trotz struktureller Unterschiede zu der Beschichtung 1c tendenziell gleiche Änderungen der Anteile für die Bindungsenergien. Allerdings ist bei den Ergebnissen der drei Beschichtungen im Vergleich kein einheitlicher Trend zu erkennen. Im Rahmen dieser Arbeit konnte jeweils nur eine Probe der Beschichtung gemessen werden. Es ist nicht zweifelsfrei klar, ob die gemessenen Änderungen alle statistisch signifikant sind.

Die Ergebnisse der hochaufgelösten O 1s Spektren der drei Copolymerbeschichtungen werden nur qualitativ diskutiert. Da sich auf dem Titan immer auch eine Oxidschicht bildet, ist die Zuordnung der einzelnen Signale im O 1s Spektrum erschwert. Es werden lediglich die einzelnen Spektren der jeweiligen Copolymerbeschichtung verglichen. Das O 1s Spektrum der Copolymerbeschichtung 1b ist in Abbildung 6.20 dargestellt. Für die unbehandelte und gammasterilisierte Probe resultiert ein ähnlicher Verlauf mit einem Maximum bei 530 eV und einer breiten Schulter im Bereich von 531 bis 534 eV. Das Spektrum der dampfsterilisierten Probe lässt sich eher in Form eines Doppelpeaks beschreiben.

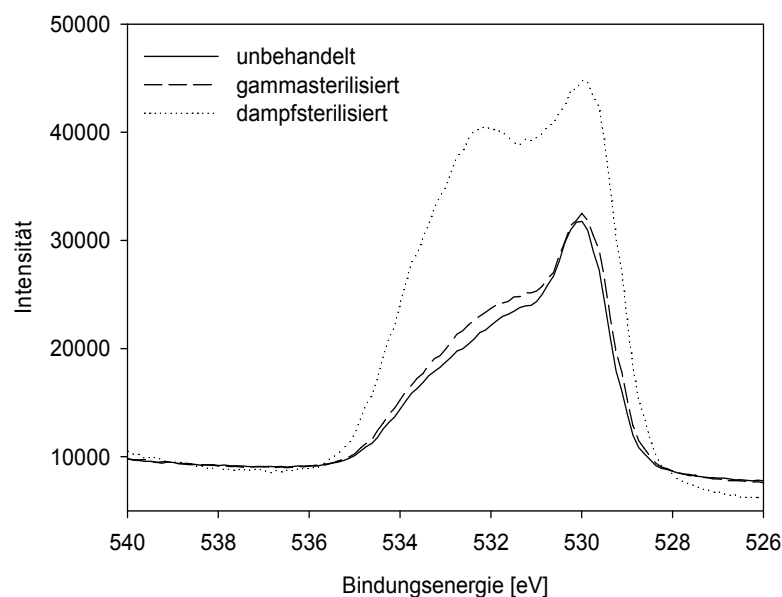


Abbildung 6.20: Hochaufgelöstes O 1s Spektrum von Copolymer 1b unbehandelt sowie nach Gamma- und Dampfsterilisation.

Ein nahezu deckungsgleicher Verlauf zeigt sich auch für die unbehandelte und gammasterilisierte Probe der Beschichtung 1c in Abbildung 6.21 links. Das Intensitätsmaximum der Peaks liegt im Bereich von 531 bis 532 eV. Die dampfsterilisierte Probe zeigt neben dem charakteristischen Signal des Doppelpeaks ebenfalls eine Verschiebung des Intensitätsmaximums zu 532 eV. Die deutlich geringere Intensität ist wiederum auf die Messeinstellung zurückzuführen.

Das Spektrum von Copolymer 5b in Abbildung 6.21 rechts zeigt für die unbehandelte und gammasterilisierte Probe tendenziell einen gleichen Verlauf im Spektrum, der wie bei der dampfsterilisierten Probe die Form eines Doppelpeaks hat.

Insgesamt kann anhand der hochaufgelösten Spektren für Sauerstoff ein deutlicher Unterschied zwischen der Gamma- und Dampfsterilisation festgestellt werden.

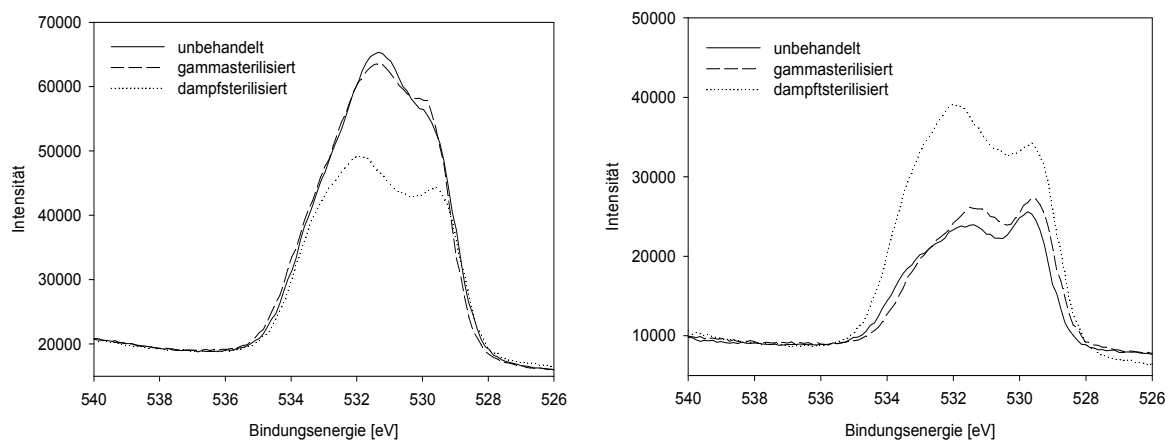


Abbildung 6.21: Hochaufgelöstes O 1s Spektrum verschiedener Oberflächen in Abhängigkeit der Behandlung: Copolymer 1c (links), Copolymer 5b (rechts).

Ein signifikanter Einfluss nach der Dampfsterilisation wird nochmals durch das hochaufgelöste N 1s Spektrum deutlich. In Abbildung 6.22 links ist zunächst das Spektrum für die Copolymerbeschichtungen 1b in Abhängigkeit der Sterilisationsbehandlung dargestellt. Wie in Kapitel 5.1.2 beschrieben werden zwei Peaks detektiert. Der Hauptpeak bei 402,6 eV ist charakteristisch für die quartäre Stickstoffverbindung. Der Peak bei 399,8 eV wird dem nicht alkylierten Anteil im Copolymer zugeordnet. Die Intensität für die dampfsterilisierte Probe ist wie bei den korrespondierenden Spektren von C 1s und O 1s deutlich höher. Auffällig ist ein zusätzlicher Peak bei etwa 406,3 eV, der nur bei der dampfsterilisierten Probe beobachtet wird. Ein Vergleich der N 1s Spektren der drei Copolymerbeschichtungen bekräftigt nochmals, dass der zusätzliche Peak ausschließlich bei den dampfsterilisierten Proben detektiert wird (siehe Abbildung 6.22 rechts).

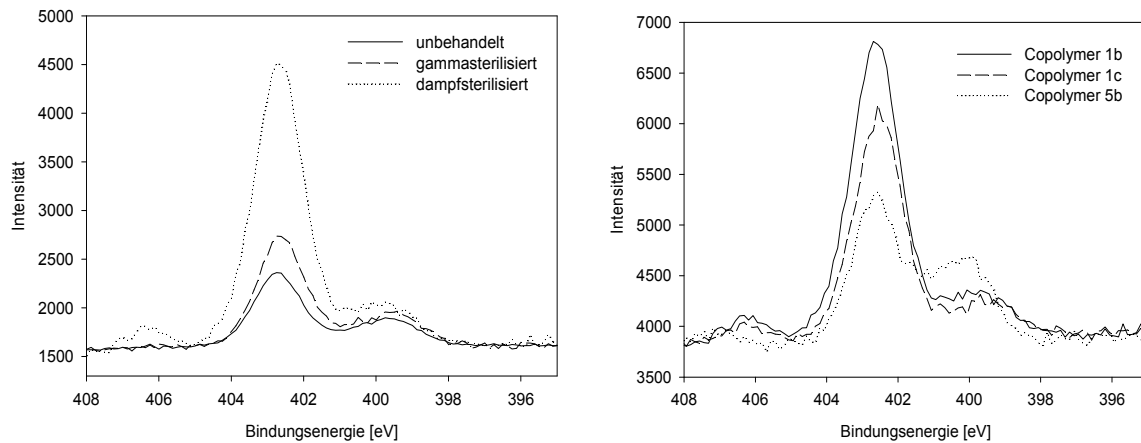


Abbildung 6.22: Hochaufgelöste N 1s Spektren verschiedener Oberflächen: Copolymer 1b unbehandelt sowie nach Gamma- und Dampfsterylisation (links), dampfsterilisierte Proben der Copolymere 1b, 1c und 5b im Vergleich (rechts).

Der Einfluss der Dampfsterylisation scheint bei den Beschichtungen 1b und 1c deutlich ausgeprägter zu sein. Die Anteile für die jeweiligen Signale sind in Tabelle 6.9 dargestellt.

Tabelle 6.9: Anteile der verschiedenen Signale im hochaufgelösten Stickstoff (N 1s) Spektrum der jeweiligen Beschichtungen in Abhängigkeit der Behandlung.

Beschichtung	Probe	N 1s [%]		
		399,8 eV	402,6 eV	406,3 eV
1b	unbehandelt	33,9	66,1	-
	gammasterilisiert	31,6	68,4	-
	dampfsterilisiert	13,8	79,1	7,1
1c	unbehandelt	35,5	64,5	-
	gammasterilisiert	32,0	68,0	-
	dampfsterilisiert	17,3	73,1	7,7
5b	unbehandelt ¹	41,0	59,0	-
	dampfsterilisiert	39,8	53,3	6,9

¹ Das Copolymer 5b entspricht nicht derselben Charge

Die Werte deuten zunächst auf eine Verschiebung der Anteile hin. Um das Ausmaß zu beurteilen werden die jeweiligen Signale in Relation zueinander betrachtet. Ausgehend von den Werten der unbehandelten Probe zeigt die Gammasterilisation bei der Beschichtung 1b nur eine leichte Verschiebung der Anteile bei 399,8 eV und 402,6 eV. Das Verhältnis der beiden Signale ändert sich von 1:1,9 (unbehandelt) nur geringfügig auf 1:2,2. Bei Copolymer 1c ist ebenfalls eine Abweichung des Verhältnisses von 1:1,8 auf nur 1:2,1 zu verzeichnen. Bei der Auswertung der Signale kann es zu leichten Verschiebungen der Bindungsenergien kommen, so dass die geringen Unterschiede im Rahmen der Auswertegenauigkeit liegen.

Die Dampfsterilisation scheint jedoch eine deutliche Verschiebung der Anteile für die Signale bei 399,8 eV und 402,6 eV durch die Bildung eines zusätzlichen Peaks bei etwa 406 eV zu bewirken. Bei Copolymer 1b verändert sich der Anteil der quartären Form (402,6 eV) von 66 % (unbehandelt) auf 79 % (dampfsterilisiert), zugleich nimmt der Anteil bei 399,8 eV von 34 % auf 14 % ab, wobei der neue Peak mit 7,1 % etwa die Hälfte des Anteils bei 399,8 eV ausmacht.

Die Änderung der Anteile bei Copolymer 1c bei 402,6 eV von 65 % (unbehandelt) auf 73 % (dampfsterilisiert) bzw. bei 399,8 eV von 36 % auf 17 % zeigt dieselbe Tendenz und liefert für den Peak bei 406 eV mit 7,7 % einen vergleichbaren Wert wie bei der Beschichtung 1b. Folglich ändert sich das Verhältnis der beiden Signale zueinander auf 1:5,7 (bei 1b) bzw. 1:4,2 (1c).

Für das Copolymer 5b wurde für die unbehandelte und gammasterilisierte Probe kein hochaufgelöstes Stickstoffspektrum aufgenommen. Als Vergleich wurden die Werte einer anderen Charge der unbehandelten Probe herangezogen. Die Werte der unbehandelten Probe ergeben bei 399,8 eV mit 41 % und bei 402,6 eV mit 59 % ein Verhältnis von 1:1,4. Die Anteile der dampfsterilisierten Probe ändern sich geringfügig auf 40 % und 53 %, was ein Verhältnis von 1:1,3 ergibt. Die Dampfsterilisation scheint die beiden Anteile der Signale gleichermaßen zu verändern. In Relation gesehen ist somit der Anteil von 6,9 % bei 406,3 eV zu dem Signal bei 399,8 eV mit einem Verhältnis von 1:5,8 relativ klein.

Die Bestimmungen der Anteile für die Signale der hochaufgelösten N 1s Spektren bei der dampfsterilisierte Probe deuten darauf hin, dass der Anteil des neuen Peaks bei 406,3 eV zugunsten des Signals bei 399,8 eV entsteht. Eine Verschiebung zu hohen Bindungsenergien von etwa 406 eV wird beispielsweise durch Nitrogruppen verursacht.^[157] Die nicht alkylierte Form bei 399,8 eV besitzt ein tertiäres Stickstoffatom mit einem freien Elektronenpaar, so dass eine mögliche Reaktion begünstigt stattfinden kann. Bei dem Copolymer 5b hingegen liegt eine aromatische Stickstoffverbindung vor, so dass das freie Elektronenpaar am Stickstoff zusätzlich durch den aromatischen Ring über Wechselwirkungen stabilisiert wird und eine Reaktion erschwert ablaufen kann. Die Bildung von Nitrogruppen scheint in diesem Fall demnach eher unwahrscheinlich zu sein. Da die Ergebnisse belegen, dass der Peak bei etwa 406 eV ausschließlich nach der Dampfsterilisation gebildet wird, muss die Ursache in der Behandlung mit Wasserdampf liegen. Es ist denkbar, dass eine Reaktion zwischen den Wassermolekülen bzw. den Hydroxygruppen und der Stickstoffverbindung stattfindet. Bei Untersuchungen von Titandioxidoberflächen, mit der Kristallstruktur eines Rutil, wurde mittels XPS eine ähnliche Beobachtung gemacht.^[156] Nachdem ein Monolayer aus NH₃-

Gruppen auf das Titandioxid aufgebracht und mit Wasser gereinigt wurde, konnte im hochaufgelösten N 1s Spektrum ein weiterer Peak im Bereich von 406 bis 410 eV gemessen werden. Das zusätzliche Signal im Spektrum wurde dahingehend diskutiert, dass azide Hydroxygruppen auf der Oberfläche vorhanden sind.

Eine Kontamination der Proben während der Dampfsterilisation wird ausgeschlossen, da mögliche Rückstände bei allen dampfsterilisierten Proben im selben Ausmaß vorliegen müssten. Anhand der XPS Untersuchungen kann die Bildung eines weiteren Peaks als Einfluss der Dampfsterilisation postuliert werden und auf eine mögliche Reaktion durch den Wasserdampf geschlossen werden. Allerdings kann im Rahmen dieser Arbeit kein endgültiger Nachweis dafür geliefert werden.

In der Literatur wurde bereits beschrieben, dass verschiedene Sterilisationsverfahren chemische, aber auch physikalische Veränderungen der Substratoberfläche zur Folge haben. Bei den Untersuchungen von SAMs mit Amin- sowie Methylfunktionen konnte mittels XPS Messungen ein Anstieg des Anteils an Carboxylgruppen festgestellt werden.^[155] Es wurde diskutiert, dass eine durch die Gammasterilisation bedingte Zunahme an hydrophilen Gruppen die Abnahme des Kontaktwinkels der Oberfläche erklären würde. Bei den hier untersuchten Beschichtungen wurde nach beiden Sterilisationsverfahren eine Abnahme des Kontaktwinkels nachgewiesen. Anhand der XPS Untersuchungen konnten Veränderungen in der elementaren Zusammensetzung der Oberfläche nach der Dampfsterilisation bei zwei Beschichtungen festgestellt werden. Zusätzlich wurden in den hochaufgelösten Spektren Unterschiede in der Verteilung der Anteile der verschiedenen Bindungsenergien beobachtet. Die Zuordnung der Signale zu bestimmten funktionellen Gruppen lässt strukturelle Veränderungen infolge der Sterilisation vermuten. Allerdings konnte für die untersuchten Beschichtungen kein eindeutiger Trend im Bezug auf eine Änderung der Anteile an Carboxyl- bzw. Carbonylverbindungen nachgewiesen werden. Vermutlich wird der Nachweis von strukturellen Veränderungen dadurch erschwert, dass die hier untersuchten Copolymere selbst aus mehreren funktionellen Gruppen wie Carbonyl- und Carboxylgruppen aufgebaut sind. Zudem liegen die Polymerketten als ultradünne Polymerfilme auf der Oberfläche vor, was zusätzlich den Nachweis geringer Änderungen erschwert. Bei den Untersuchungen des Einflusses durch Gamma- und Dampfsterilisation auf PET-Oberflächen wurde von einer ähnlichen Problematik berichtet.^[158] Zusammenfassend konnte anhand der XPS Messungen gezeigt werden, dass vor allem die Dampfsterilisation eine Auswirkung auf die elementare Zusammensetzung der Oberfläche hat, obwohl statistisch nachgewiesen werden konnte, dass

sich diese nicht auf die antibakterielle Wirkung der untersuchten Copolymerbeschichtungen auswirkt (siehe Kapitel 6.5.1).

6.5.4 Ergebnisse der AFM Untersuchungen

Im Hinblick auf die Oberflächeneigenschaften wurde eine Änderung der Benetzbarkeit mittels Kontaktwinkelmessungen nach der Sterilisation nachgewiesen. Eine weitere interessante Fragestellung ist, ob die Sterilisationsprozesse eine Veränderung der Topographie des Polymerfilms auf Titan bewirken. Daher wurden AFM Untersuchungen an dampf- und gammasterilisierten Proben durchgeführt und für einen Vergleich die Copolymere Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) (Copolymer 1b) sowie Poly(*hexyl*-VP)-co-(DMMEP) mit der Zusammensetzung 24:76 (Copolymer 5b) ausgewählt. Die Höhenprofile mit einem Bildausschnitt von 2x2 µm für Copolymer 1b sind in Abbildung 6.23 dargestellt. Es lässt sich eine Veränderung der Topographie nach den beiden Sterilisationsprozessen beobachten. Die unbehandelte Probe (A) zeigt eine Verteilung von halbkugelartigen Strukturen auf der Oberfläche (siehe Kapitel 5.1.3). Nach der Dampfsterilisation (B) sind nur einzelne dieser Strukturen mit einer maximalen Höhe von 20 nm zu sehen, wohingegen die Oberfläche größtenteils durch Bereiche mit Höhen von durchschnittlich 10 nm entsprechend der Farbskala geprägt ist. Zusätzlich sind größere Flächen mit Höhen bis ca. 20 nm zu beobachten, die sich auch in Form von Streifen (gelbe Bereiche) bei der gammasterilisierten Probe (C) zeigen. Ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Sterilisationsmethoden ist in der Homogenität des Polymerfilms zu sehen. Die Topographie des Polymerfilms nach der Gammasterilisation (C) scheint gleichmäßiger zu sein im Vergleich zu dem Polymerfilm nach der Dampfsterilisation (B). Die Topographie der reinen Titanoberfläche (D) lässt sich allgemein in zwei Profilebenen beschreiben. Die untere Ebene besteht aus einer glatten Oberfläche mit Höhen von durchschnittlich 7 nm und bildet die Substratoberfläche ab. Zusätzlich sind Bereiche in Form gelber Flächen entsprechend der Farbskala (obere Ebene) zu beobachten. Es kann vermutet werden, dass diese kraterartigen Strukturen womöglich durch die Vorbehandlung der Titanoberflächen wie Schleif- und Polierprozesse entstanden sind. Insgesamt lässt sich ein Unterschied in der Topographie zwischen dem reinen Titansubstrat (D) und der beschichteten Proben (A bis C) verzeichnen.

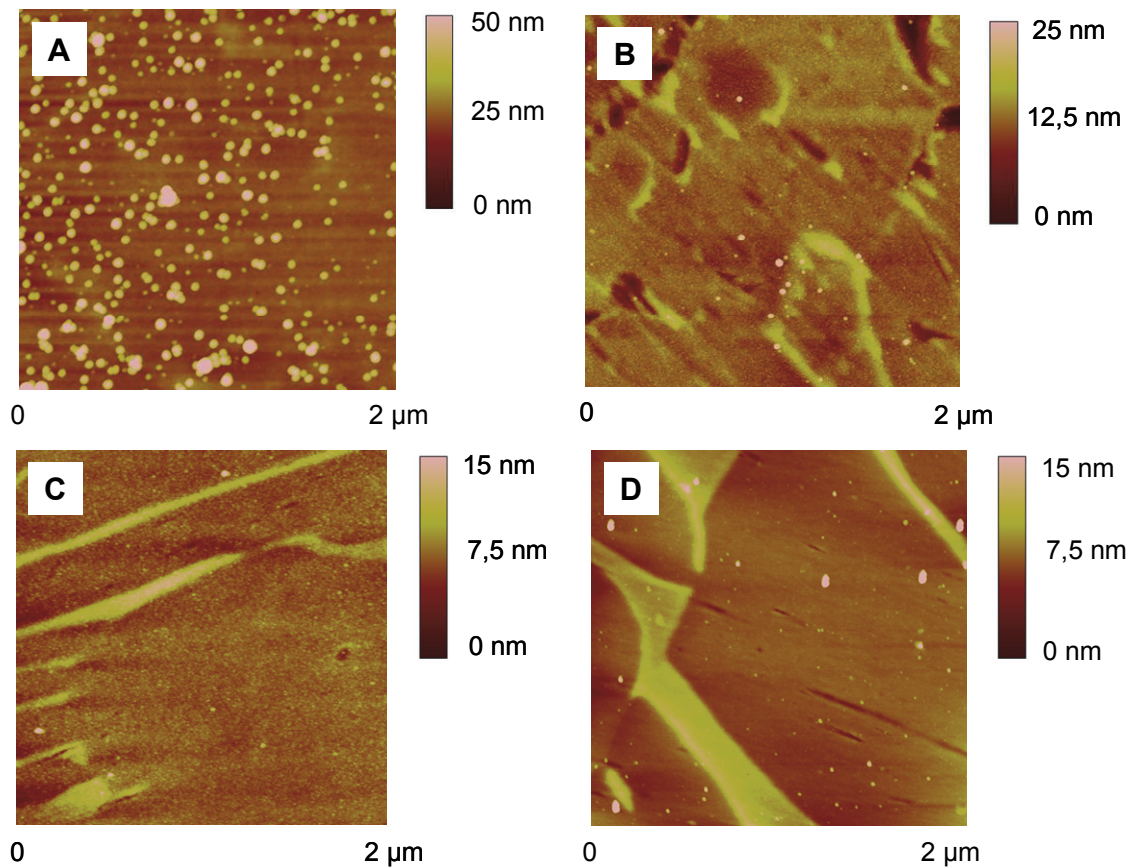


Abbildung 6.23: AFM Höhenprofile mit einem Bildausschnitt von 2x2 μm von Copolymer 1b: unbehandelt (A), dampfsterilisiert (B), gammasterilisiert (C) und reines Titansubstrat gammasterilisiert (D).

Die Beschichtung mit (Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) (Copolymer 5b) deutet im Vergleich zu Copolymer 1b auf eine weniger veränderte Oberflächenverteilung hin. In Abbildung 6.24 zeigt die unbehandelte Oberfläche (A) mit der charakteristischen Ausbildung von halbkugelartigen Strukturen eine Topographie, die nach der Gammasterilisation (C) ebenfalls zu beobachten ist. Unterhalb dieser ist die Oberfläche größtenteils von gleichmäßigen Bereichen mit Höhen von 15 bis 20 nm sowie zum teil lang gestreckten Flächen von Höhen bis zu 30 nm geprägt. Die Aufnahme der dampfsterilisierten Probe (B) zeigt nur vereinzelt die runden Formen und deutet auf eine recht homogene Höhenverteilung um 20 nm mit zwei auffällig großen Bereichen identischer Höhe. Ein Vergleich der beiden Copolymerbeschichtungen zeigt, dass bei Copolymer 5b ein deutlicher Unterschied in der Verteilung des Polymerfilms zwischen den beiden Sterilisationsprozessen festzustellen ist. Dabei scheint die Gammasterilisation einen geringeren Effekt hinsichtlich der Oberflächentopographie zu haben. Bei dem hier entwickelten Copolymer Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) (Copolymer 1) lassen die Untersuchungen mittels AFM eher auf eine deutliche Veränderung der Topographie nach beiden Sterilisationsprozessen schließen.

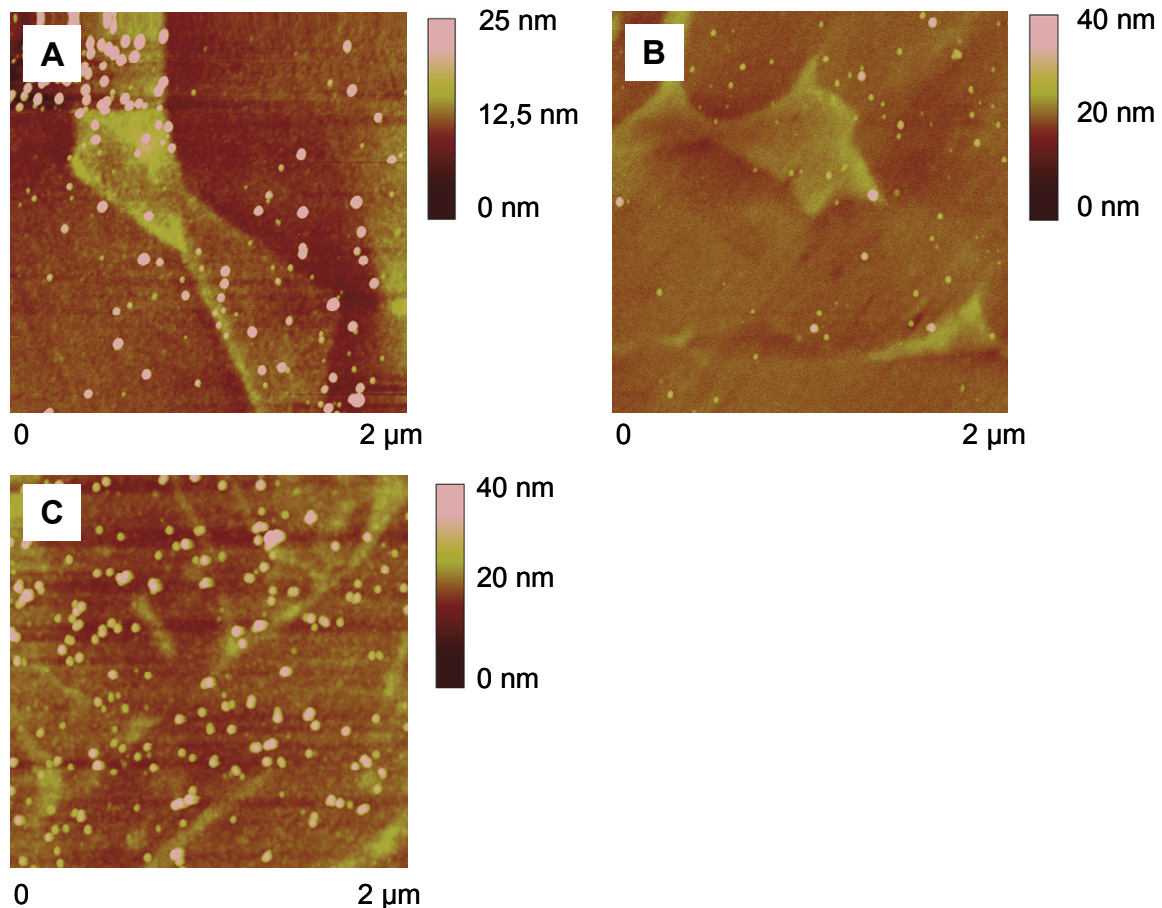


Abbildung 6.24: AFM Höhenprofil der Beschichtung von Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) (Copolymer 5b) mit einem Bildausschnitt von 2x2 µm: unbehandelt (A), dampfsterilisiert (B) und gammasterilisiert (C).

Zusammenfassend konnte anhand der Höhenprofile eine Veränderung der Topographie nach der Sterilisation festgestellt werden. Unter Einbeziehung der Untersuchungen auf antibakterielle Wirksamkeit scheint die Dampfsterilisation trotz der veränderten Topographie keinen Einfluss auf die Reduktion der Bakterienadhäsion zu haben. Die Untersuchungen der gammasterilisierten Proben haben jedoch einen negativen Einfluss auf die antibakterielle Wirkung in Abhängigkeit vom Copolymersystem gezeigt. Diese Abhängigkeit von der Art der Copolymerbeschichtung lässt sich bei den AFM Untersuchungen ebenfalls beobachten. Bei dem Copolymer 1b zeigt die gammasterilisierte Probe im Vergleich zur unbehandelten eine deutliche Veränderung der Topographie. Diese Veränderung kann bei dem Copolymer 5b jedoch nicht festgestellt werden. Es kann spekuliert werden, dass zwischen dem unterschiedlichen Einfluss der Gammasterilisation auf die antibakterielle Wirksamkeit sowie der Änderung der Topographie ein Zusammenhang besteht. Diese Annahme würde zumindest erklären, warum bei dem System Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) nach der Gammasterilisation die antibakterielle Wirksamkeit herabgesetzt und zugleich eine Änderung der Topographie bewirkt wird. Dagegen scheint die Topographie des Polymerfilms von

Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) sich im selben Ausmaß nicht zu verändern, was zumindest mit dem geringeren Effekt der Gammasterilisation auf die antibakterielle Wirkung im Einklang steht.

6.5.5 Weitere Ergebnisse zum Einfluss der Gammasterilisation

Bei den Untersuchungen des Einflusses durch Sterilisation ist vor allem die Auswirkung auf die antibakterielle Wirksamkeit der Polymerbeschichtung entscheidend. Im Vordergrund stand daher die Untersuchung des Effektes direkt auf die auf Titan aufgetragenen Polymerfilme. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass Gammasterilisation diese Wirkung herabsetzt. Zusätzlich deuten die bisherigen Untersuchungen darauf hin, dass der Effekt durch die Gammasterilisation sich auf die beiden Systeme Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) und Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) deutlich unterscheidet. Bislang konnte keine abschließende Erklärung dafür geliefert werden. Demzufolge werden mögliche Änderungen auf molekularer Ebene analysiert und der Fokus auf die Auswirkung der Gammasterilisation gelegt.

Es wurden ^1H -NMR Untersuchungen des Copolymers 1b (als Reinstoff in D_2O) vor und nach der Gammasterilisation vorgenommen, die identische Spektren zeigten (siehe Anhang 10.3). Ein Vergleich der Integrale vor und nach der Behandlung anhand der Methylgruppe am Phosphor bei 3,8-3,9 ppm und der Methylgruppe am Stickstoff des DMAEMA bei 3,2-3,4 ppm lieferte eine um 4 % abweichende Intensität. Die geringe Abweichung kann als Messfehler angesehen werden. Die Ergebnisse deuten insgesamt auf keine Änderung der Polymerstruktur sowie der Zusammensetzung hin und werden durch die Daten der Elementaranalyse vor und nach der Gammasterilisation bestätigt.

Bei dem Einfluss der Gammastrahlung sowie möglicher oxidativer Vorgänge sollte eine Zunahme von Carbonyl- bzw. Carboxylgruppen erwartet werden, die mittels FTIR-Spektroskopie durch eine höhere Intensität der Banden im Bereich von 1600 bis 1800 cm^{-1} nachzuweisen wäre. Ein Vergleich der Spektren des Copolymers 1b (KBr-Pressling) in Abbildung 6.25 zeigt keine eindeutige Veränderung der Banden nach der Gammasterilisation. Eine Zunahme der Intensität der charakteristischen Banden von Carbonyl- bzw. Carboxylverbindungen kann nicht beobachtet werden. Die FTIR Untersuchungen dienen lediglich einer qualitativen Analyse, dennoch liefern die Ergebnisse mit vorherigen Untersuchungen von Copolymeren vergleichbare Resultate.^[159] Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass bedingt durch die bereits vorhandenen funktionellen Gruppen des Copolymers eine Differenzierung vor und nach der Sterilisation mittels FTIR-Spektroskopie nicht messbar ist.

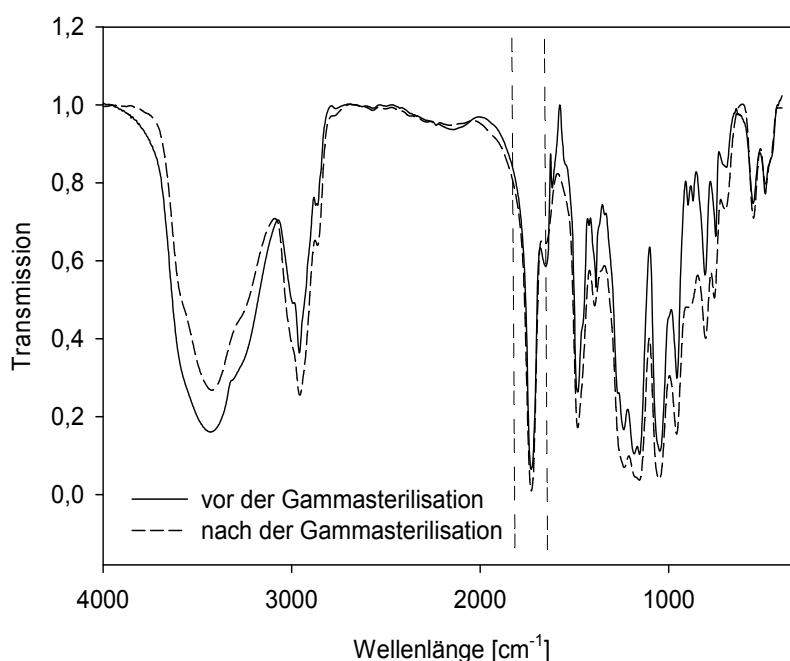


Abbildung 6.25: FTIR-Spektrum des Copolymers 1b vor und nach der Gammasterilisation als KBr-Pressling.

Neben der strukturellen Änderung infolge von oxidativen Vorgängen wurde in der Literatur eine Abnahme des Molekulargewichts in Verbindung mit Sterilisationsverfahren beschrieben.^[152] Die Bestimmung des Molekulargewichts (M_n) mittels Gelpermeations-Chromatographie (GPC) des Copolymers 1 erwies sich als schwierig (siehe Kapitel 4.2.2), daher wurde alternativ für eine erste Einschätzung das bereits charakterisierte System von PFAFFENROTH et al. (Copolymer 5) herangezogen. Das Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) 24:76 (Copolymer 5b) wurde als Pulver gammasterilisiert und anschließend mittels wässriger GPC gemessen. Dabei wurde das Copolymer vor der Alkylierung verwendet, da die ionische Form aufgrund der Wechselwirkung mit dem hier verwendeten Säulenmaterial nicht untersucht werden kann.

Die Ergebnisse des unbehandelten Copolymers 5b liefern ein Molekulargewicht (M_n) von 40 900 g/mol, welches geringfügig von dem bereits ermittelten Wert von 39 700 g/mol abweicht.^[47] Die gammasterilisierte Probe weist einen Wert von 39 000 g/mol auf und deutet unter Berücksichtigung des Messfehlers auf keine signifikante Abnahme des Molekulargewichts hin.

Weiterhin wurden thermogravimetrische Messungen (TGA) vorgenommen. Das Copolymer 1b wurde als Pulver gammasterilisiert und die Zersetzungskurven der unbehandelten und gammasterilisierten Probe ermittelt. Für einen Vergleich wurde das Copolymer 5b entsprechend untersucht. Die Zersetzungskurven beider Systeme sind in Abbildung 6.26 einander gegenübergestellt.

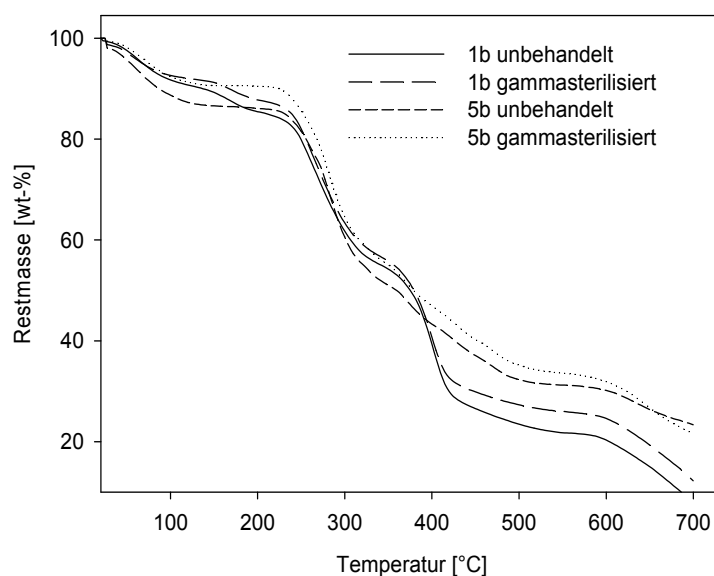


Abbildung 6.26: Zersetzungskurven aus der thermogravimetrischen Analyse der Copolymere Poly(DMMEP-co-hexyl/DMAEMA) 1b und Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) (Copolymer 5b) vor und nach der Gammasterilisation.

Im Temperaturbereich von 30 °C bis 130 °C kann der Massenverlust auf Rückstände von Lösungsmitteln (Diethylether, Methanol) sowie Wasser zurückgeführt werden. Bei dem Copolymer 1b zeigt die Zersetzungskurve einen zweistufigen Degradationsprozess, wohingegen bei Copolymer 5b nur eine deutliche Stufe erkennbar ist. Die Unterschiede in den Zersetzungskurven zwischen den beiden Systemen lassen sich anhand der unterschiedlichen Comonomere im Copolymer erklären. Beide Copolymere besitzen den Phosphonatester DMMEP, so dass die erste Stufe der Degradation dieses Comonomers entspricht und zusätzlich durch die Untersuchungen des Homopolymers Poly(DMMEP) gestützt wird.^[47] Die zweite Stufe der Zersetzungskurve von Copolymer 1b beschreibt demnach die Degradation des weiteren Comonomers *hexyl*/DMAEMA.^[131] Die Degradation von *hexyl*-VP im Copolymer 5b findet nur sehr langsam statt und erstreckt sich über einen größeren Temperaturbereich, so dass keine klare zweite Stufe erkennbar ist. Bei der Zersetzung des Comonomers bilden sich wahrscheinlich mehrere niedermolekulare Bestandteile, die bei unterschiedlichen Temperaturen verdampfen. Diese Annahme bestätigt sich in den vorherigen Untersuchungen des Homopolymers.^[47]

Die Anteile des Massenverlusts sowie die Zersetzungstemperatur (Onset-Temperatur), bei der die Degradation beginnt, sind in Tabelle 6.10 dargestellt. Die erste Stufe des Copolymers 1b beginnt für die unbehandelte Probe bei einer Temperatur von $T_{\text{Onset } 1} = 240$ °C und ist vergleichbar mit der gammasterilisierten Probe mit $T_{\text{Onset } 1} = 238$ °C. Der Massenverlust mit 29,6 % (unbehandelt) und 30,8 % (gammasterilisiert) deutet zugleich auf keinen signifikanten

Unterschied, was sich auch bei der zweiten Stufe der Zersetzungskurve zeigt. Beide Proben liefern mit $T_{\text{Onset } 2} = 379 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (unbehandelt) und 28,7 % Massenabnahme bzw. $378 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (gammasterilisiert) und 26,6 % Massenverlust vergleichbare Werte. Die Ergebnisse der TGA deuten auf keine eindeutigen Unterschiede, so dass schlussfolgernd die Gammasterilisation keinen Einfluss auf das Degradationsverhalten des Copolymers 1b hat.

Die Ergebnisse für das Copolymer 5b führen zu derselben Schlussfolgerung. Das Copolymer 5b zeigt eine eindeutige Stufe mit einer Temperatur $T_{\text{Onset } 1} = 251 \text{ }^{\circ}\text{C}$ für die unbehandelte Probe bzw. $T_{\text{Onset } 1} = 248 \text{ }^{\circ}\text{C}$ für die gammasterilisierte mit vergleichbaren Anteilen des Massenverlustes von 30,7 % bzw. 31,0 %. Diese Resultate lassen auch bei Copolymer 5b auf keine Änderung des Degradationsverhaltens infolge der Gammasterilisation schließen.

Tabelle 6.10: Daten aus der thermogravimetrischen Analyse zu Massenverlust bei bestimmter Temperatur (T_{Onset}) der Proben Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) 1b und Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) 5b vor und nach der Gammasterilisation.

Copolymer	Probe	$T_{\text{Onset } 1}$ [$^{\circ}\text{C}$]	Massenverlust [wt-%]	$T_{\text{Onset } 2}$ [$^{\circ}\text{C}$]	Massenverlust [wt-%]
1b	unbehandelt	240	29,6	379	28,7
	gammasterilisiert	238	30,8	378	26,6
5b	unbehandelt	251	30,7		
	gammasterilisiert	248	31,0		

Insgesamt zeigen die Ergebnisse der thermogravimetrischen Analyse, dass die Copolymere 1b und 5b erst ab einer Temperatur oberhalb von $200 \text{ }^{\circ}\text{C}$ abgebaut werden und bis dahin gegenüber hohen Temperaturen stabil sind. Zusammenfassend lassen die Ergebnisse keinen Einfluss der Gammasterilisation auf das Degradationsverhalten sowie Unterschiede im Massenverlust erkennen.

6.5.6 Zusammenfassung

Es wurden verschiedene Untersuchungen angestellt, um den Einfluss von Dampf- und Gammasterilisation auf die Polymerbeschichtungen zu beurteilen. Im Vordergrund stand der Einfluss der Sterilisation auf die antibakterielle Wirkung der Copolymerbeschichtungen. Dabei konnte ein Einfluss der Gammasterilisation auf die Adhäsion der Bakterien festgestellt werden. Die Wirksamkeit des Systems Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) wurde herabgesetzt, wohingegen bei Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) quantitativ keine Beeinträchtigung nachgewiesen werden konnte. Nach der Dampfsterilisation wurde bei beiden Systemen keine Auswirkung beobachtet und weiterhin eine antibakterielle Wirkung

bestätigt. In Hinblick auf die Oberflächeneigenschaften ergaben die Ergebnisse keine Änderung der Schichtdicke, jedoch eine Abnahme des Kontaktwinkels nach beiden Sterilisationsmethoden. Nach der Dampfsterilisation war die Änderung des Kontaktwinkels bei Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP) etwas stärker als bei Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA). Die Veränderung nach der Gammasterilisation war bei beiden Copolymersystemen dagegen vergleichbar. Es konnte eine Änderung der Benetzungseigenschaften und folglich eine Erhöhung der Hydrophilie der Oberfläche durch die Sterilisation nachgewiesen werden.

Mittels XPS Untersuchungen wurden Änderungen der elementaren Zusammensetzung der Oberfläche ermittelt. Ein stärkerer Einfluss durch die Dampfsterilisation wurde beobachtet. Es konnte zwischen den beiden Sterilisationsmethoden differenziert werden, indem Änderungen der Anteile an Carbonyl- bzw. Carboxylverbindungen im Copolymer gemessen wurden. Bei der Analyse der einzelnen Beschichtung (unbehandelt, dampf- und gammasterilisiert) konnten signifikante Unterschiede ausgemacht werden. Bei dem Vergleich aller Beschichtungen (Copolymer 1b, 1c und 5b) war jedoch keine einheitliche Tendenz zu erkennen. Zusätzlich ermöglichten Aufnahmen von Höhenprofilen mittels AFM zwischen den beiden Sterilisationsmethoden zu differenzieren. Die Sterilisation scheint eine Änderung der Topographie der mit Polymer beschichteten Oberfläche zu bewirken. Die gammasterilisierten Proben zeigten dabei deutliche Unterschiede zwischen den beiden Copolymersystemen auf. Auch anhand weiterer spektroskopischer Untersuchungen sowie der TGA konnte kein Aufschluss über mögliche strukturelle Änderungen durch die Gammasterilisation dargelegt werden. Im Rahmen dieser Arbeit konnte nicht eindeutig geklärt werden, durch welche Veränderungen die antibakterielle Wirkung nach der Gammasterilisation herabgesetzt wird. Allerdings wurde nachgewiesen, dass die Copolymerbeschichtungen durch die Dampfsterilisation nicht beeinflusst werden und diese Methode zukünftig für die hier entwickelten Copolymere bei *In-vivo*-Untersuchungen ohne Einschränkung der antibakteriellen Wirksamkeit eingesetzt werden kann.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Bei der Entwicklung von antimikrobiellen Polymeren wurden natürliche antimikrobielle Peptide als Vorbild genutzt und ihre amphiphile Struktur auf synthetische Polymere übertragen. So konnten in verschiedenen Ansätzen nachweislich kontaktkbakterizide Oberflächen mit quartären Ammoniumgruppen entwickelt werden. Dennoch gibt es wenige selektiv wirkende Systeme, die neben antimikrobiellen auch biokompatible Eigenschaften aufweisen. In einem ersten Ansatz von PFAFFENROTH et al. wurden sowohl antibakterielle als auch oberflächenaktive Gruppen in einem Copolymer vereint und antimikrobielle Beschichtungen für die zahnmedizinische Anwendung entwickelt. Dieses Konzept konnte im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich auf die Entwicklung von Polymerbeschichtungen für Extremitätenprothesen übertragen werden. Die Anbindung an die Titan(oxid)schicht über die oberflächenaktiven Gruppen von Phosphonatestern wurde durch einen neuen Ansatz mit primären Aminen erweitert. Anhand der Homopolymere konnte gezeigt werden, dass die neue Anbindungsstrategie eine weitere Möglichkeit bietet, um Polymerfilme auf Titan(oxid)oberflächen auszubilden. Im Rahmen dieser Arbeit konnten Copolymere mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen in verschiedenen Zusammensetzungen hergestellt werden. Für bestimmte Zusammensetzungen konnten neben der gewünschten antibakteriellen Wirkung auch gute Biokompatibilität nachgewiesen werden. Zusätzlich ermöglichte die Variation zwischen den Copolymeren eine Aussage über den Einfluss bestimmter funktioneller Gruppen auf die Wirksamkeit zu treffen.

Es wurde der Lösungsansatz gewählt, verschiedene Copolymere aus quartären Ammoniumverbindungen des 2-Dimethylaminoethylmethacrylats kombiniert mit Phosphonatestern oder dem primären Amin 2-Aminoethylmethacrylathydrochlorid herzustellen. Mittels freier radikalischer Copolymerisation konnten verschiedene Systeme über einen einfachen Syntheseweg synthetisiert werden. Dazu wurde das 2-Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) mit Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP) umgesetzt und anschließend in einer polymeranalogen Reaktion mit Bromhexan die quartäre Ammoniumverbindung des Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) gebildet. Der Einsatz eines bereits quartären Monomers wie (Methacryloyloxy)ethyltrimethylammoniumchlorid (*methyl*/DMAEMA) konnte in einem Syntheseschritt mit DMMEP zu Poly(DMMEP-co-*methyl*/DMAEMA) oder analog mit Diethylvinylphosphonat (DEVP) zu Poly(DEVP-co-*methyl*/DMAEMA) umgesetzt werden. Ein neuer Ansatz zur Anbindung konnte mit

Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) aus 2-Aminoethylmethacrylathydrochlorid (AEMA) und DMAEMA, welches vor dem Einsatz mit Bromhexan erfolgreich N-alkyliert wurde, realisiert werden. Mit Ausnahme von Poly(DEVP-co-*methy*/DMAEMA) wurden Copolymere unterschiedlicher Zusammensetzungen synthetisiert. Zusätzlich konnten die Homopolymere Poly(DMMEP) und Poly(AEMA) mittels freier radikalischer Homopolymerisation hergestellt werden.

Die Immobilisierung der hergestellten Copolymere auf Titansubstrate erfolgte über einen Spin-Coating Prozess mit anschließendem Tempern der beschichteten Substrate sowie Reinigen im Ultraschallbad, um nicht angebondenes Polymer zu entfernen. Untersuchungen mittels Ellipsometrie und Kontaktwinkel bestätigten eine erfolgreiche Anbindung der Polymere auf Titan(oxid)oberflächen. Eine quantitative Analyse der chemischen Zusammensetzung im Polymer lieferte über Röntgenphotoelektronenspektroskopie einen zusätzlichen Nachweis.

Die Charakterisierung der Polymerfilme zeigte einen deutlichen Unterschied zwischen den beiden Anbindungsstrategien und konnte anhand der Homopolymere auf die Wahl der oberflächenaktiven Gruppe zurückgeführt werden. Die Anbindung über primäre Amine resultiert in 10mal so hohen Schichtdicken, wohingegen die phosphonathaltigen Copolymere ultradünne Polymerfilme mit wenigen Nanometer Schichtdicke ausbilden. Weiterhin konnte anhand der Rasterkraftmikroskopie ein Einfluss der verschiedenen Anbindungsgruppen auf die Topographie der Polymerfilme auf der Titan(oxid)oberfläche unter Ausbildung charakteristischer Strukturen festgestellt werden. Die Untersuchungen deuten auf eine mögliche Vernetzungsreaktion des primären Amins hin, ein konkreter Anbindungsmechanismus konnte im Rahmen der Arbeit jedoch nicht bewiesen werden. Dennoch konnte gezeigt werden, dass der neue Ansatz über primäre Amine zu einer Bildung stabiler Polymerfilme auf Titansubstraten mit verhältnismäßig hohen Schichtdicken führt und zugleich als weitere Anbindungsstrategie anwendbar ist.

Als potenziell kontaktbakterizide Oberflächen zeichneten sich die drei Systeme Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA), Poly(DMMEP-co-*methy*/DMAEMA) und Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) aus, die in den Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirksamkeit und Biokompatibilität aber deutliche Unterschiede verzeichneten.

Ein vollständiges Screening für die verschiedenen Zusammensetzungen im Poly(DMMEP-co-*hexyl*/DMAEMA) zeigte eine signifikante Abhängigkeit zwischen der Zusammensetzung und der antibakteriellen Wirkung. Ein gewisser Anteil an DMMEP im Copolymer ist notwendig,

um die gewünschte Reduktion der Bakterienadhäsion zu erhalten. Gleichzeitig konnte für die bestimmten Zusammensetzungen nur eine weniger zufriedenstellende Biokompatibilität gegenüber humanen Dermisfibroblasten erreicht werden. Der Einbau des primären Amins bewirkte quantitativ eine Erhöhung der Biokompatibilität, so dass das Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA) bestimmter Zusammensetzung eine Proliferation der Dermisfibroblasten im gleichen Maße wie reine Titan(oxid)oberflächen fördert. Ein Vergleich der Homopolymere bestätigte den positiven Einfluss durch das primäre Amin. Allerdings konnte für dieses System nicht die gewünschte antibakterielle Wirkung nachgewiesen werden. Das System Poly(DMMEP-co-*methyl*/DMAEMA) zeigte mit vergleichbar hohem Anteil an DMMEP die gewünschte Reduktion der Bakterienadhäsion und verdeutlichte zugleich, dass das Comonomer DMMEP eine zusätzliche Einflussgröße auf die antibakterielle Wirkung darstellt. Demgegenüber zeigt es akzeptable biokompatible Eigenschaften auf, so dass die Beschichtungen von Poly(DMMEP-co-*methyl*/DMAEMA) mit den Zusammensetzungen von (68:32) und (81:19) sich als vielversprechend erweisen. Die Entwicklung einer Methode zur Herstellung von teilbeschichteten Proben lieferte zusätzlich den Nachweis, dass eine Reduktion der Bakterienadhäsion durch den direkten Kontakt mit der Polymerbeschichtung bewirkt wird.

Für eine medizinische Anwendung ist vor allem der Nachweis unter *In-vivo*-Bedingungen entscheidend. Anhand von Untersuchungen des Einflusses von Sterilisationsprozessen wurden Versuche zur Stabilität der Polymerbeschichtungen unternommen. Unter Verwendung von zwei Verfahren, der Dampf- und Gammasterilisation, stellte sich die Dampfsterilisation als Methode der Wahl heraus. Nach der Behandlung mit Gammastrahlung wurde bei den mikrobiologischen Untersuchungen der Bakterienadhäsion eine Abnahme der antibakteriellen Wirkung der Polymerbeschichtung nachgewiesen. Ein Einfluss durch die Dampfsterilisation konnte hingegen mit statistischer Signifikanz ausgeschlossen werden, so dass die Stabilität der Polymerbeschichtung ohne Beeinflussung ihrer Eigenschaften unter diesen Bedingungen belegt wird.

Anhand der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Copolymere wurde nochmals die Komplexität, die in der Kombination von zwei ambivalenten Eigenschaften wie der antimikrobiellen Wirksamkeit und Biokompatibilität in einem System liegt, deutlich gemacht. In Hinblick auf den Wirkmechanismus der kontaktbakteriziden Wirkung konnte der Einfluss des Gleichgewichts zwischen Hydrophilie und Hydrophobie als ein entscheidender Faktor zum Ausdruck gebracht werden. Über die Variation unterschiedlicher Comonomere können

verschiedene Anforderungen erfüllt werden. So konnte durch den Austausch bestimmter Gruppen die Biokompatibilität verbessert werden, obgleich die antibakterielle Wirkung herabgesetzt wurde. Der Ansatz der Copolymere bedarf zwar weiterer Forschung, scheint aber für fortführende Entwicklungen von antimikrobiellen Oberflächen sehr vielversprechend zu sein. Zusätzlich müssen weitere Untersuchungen unter *In-vivo*-Bedingungen als Ziel gesetzt werden, damit zukünftig die entwickelten Beschichtungen zur Modifizierung von Implantatoberflächen wie der hier relevanten Extremitätenprothesen eingesetzt werden können.

8. Experimenteller Teil

8.1 Materialien

8.1.1 Verwendete Lösungsmittel

Lösungsmittel	Reinheitsgrad
Aceton	technisch
Aceton, HPLC-Qualität	99,98 % (GC)
Dichlormethan	technisch
Dichlormethan, HPLC-Qualität	99,98 % (GC)
Diethylether	technisch
Dimethylsulfoxid (DMSO)	99,7 %
Ethanol	technisch
Ethylacetat	technisch
Hexan	technisch
Methanol (MeOH)	technisch
Methanol, HPLC-Qualität	99,98 % (GC)
Nitromethan	99,8 %
Petrolether (PE)	technisch
Tetrahydrofuran (THF)	technisch
Wasser (Millipore)	technisch

Die technischen Lösungsmittel werden vor der Verwendung oder Reinigung destilliert. Tetrahydrofuran wird über Natrium und Benzophenon getrocknet und vor dem Einsatz frisch destilliert.

8.1.2 Verwendete Chemikalien

Chemikalien	Hersteller	Reinheitsgrad
2-Aminoethylmethacrylathydrochlorid (AEMA)	Aldrich	90 %
2,2 Azobis(2-methylpropionamidin) dihydrochlorid (V50)	Aldrich	97 %
Azoisobutyronitril (AIBN)	Acros	98 %
Borsäure (H_3BO_3)		
1-Bromhexan	Aldrich	98 %
Calciumhydrid (CaH_2)	Aldrich	90-95 %
Dicumylperoxid (DCPO)	Aldrich	98 %
Diethylvinylphosphonat (DEVP)	Aldrich	97 %
2-Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA)	Aldrich	99 %
Dimethyl-2-hydroxyethylphosphonat	Acros	95 %
2,6 Di-tert-butylparacrisol	Aldrich	99 %
2-(Methacryloyloxy)ethyltrimethylammoniumchlorid (Lösung in H_2O)	Aldrich	80 %
konz. Salzsäure (HCl)	Aldrich	37 % p. a.
Methacrylsäurechlorid	Alfa Aesar	97 %
Natriumhydroxid (NaOH)	Roth	≥ 99 %
Triethylamin	Acros	p. a.

Das Triethylamin wird vor dem Einsatz einen Tag über CaH_2 unter Rückfluss getrocknet und abdestilliert. Das DMAEMA wird vor Gebrauch über CaH_2 getrocknet und bei 14 mbar destilliert (Siedepunkt 67 °C). Die Lagerung erfolgt unter Stickstoffatmosphäre bei -30 °C.

8.1.3 Substrate

Zur Aufbringung der Polymerfilme wurden runde Substrate aus Titan Grade 5 (Ti6Al4V-Legierung) mit einem Durchmesser von 13 mm der Firma Otto Bock Healthcare verwendet, die aus Stangenmaterial hergestellt wurden. Die Probekörper wurden vor dem Einsatz mit einem Poliergerät des Typs Phoenix 4000 der Firma Buehler unter Verwendung verschiedener Siliziumcarbit-Nassschleifpapiere geschliffen. Entsprechend der Körnung wurden die Nassschleifpapiere des Typs P 800, P 1200 und P 2500 verwendet. Anschließend erfolgte das Polieren der Substrate mit einem ChemoMet Poliertuch sowie unter Einsatz von

kolloidalen Siliziumdioxid-Feinstpoliersuspension des Typs MasterMet und MasterMet 2 der Firma Buehler. Zur Reinigung wurden die Substrate im Ultraschallbad für 2-mal 10 Minuten in den Lösungsmittel Dichlormethan, Aceton, Methanol und Millipore-Wasser gewaschen. Direkt vor dem Beschichtungsvorgang wurden die Probekörper erneut mit Dichlormethan, Aceton, Methanol in HPLC-Qualität und Millipore-Wasser für 2-mal 10 Minuten im Ultraschallbad gereinigt und abschließend unter Stickstoffstrom getrocknet.

8.2 Darstellung der Monomere

8.2.1 Darstellung von Dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP)

Es wird ein 500 ml Dreihalskolben mit Tropftrichter (mit Druckausgleich) ausgeheizt und unter Stickstoffatmosphäre 30 ml (202 mmol) Dimethyl-2-hydroxyethylphosphonat, 28,2 ml (202 mmol) Triethylamin und 2 Spatel 2,6-Di-tert-butylparacresol in 320 ml Dichlormethan vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird auf 0 °C gekühlt und 24 ml (260 mmol) Methacrylsäurechlorid in 50 ml Dichlormethan langsam unter Bildung eines weißen Niederschlags zugetropft. Die Mischung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird der Suspension zunächst Diethylether zugegeben, um während der Reaktion gebildetes und teilweise noch in Lösung vorliegendes NEt_3HCl zu fällen. Anschließend wird der Niederschlag abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Die flüssige Phase wird am Rotationsverdampfer eingengt. Dabei wird erneut abgeschiedenes NEt_3HCl abfiltriert und der Niederschlag mit Diethylether gewaschen. Dieses Vorgehen wird wiederholt bis keine Auskristallisation mehr beobachtet werden kann. Dann wird der Rückstand bei $1,8 \times 10^{-2}$ mbar und 155 °C Ölbadtemperatur destilliert.

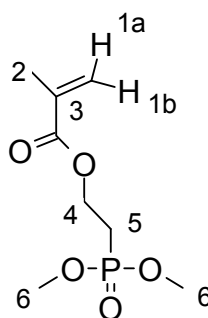


Abbildung 8.1: Dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP)

Ausbeute: 62 % (27,73 g, 124,8 mol)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) [ppm]: 1,94 (dd, 3H, H-2); 2,19 und 2,26 (dt, 2H, H-6); 3,77 (d, 6H,

H-7); 4,37 und 4,41 (dt, 2H, H-5); 5,6 (m, 1H, H-1b); 6,12 (m, 1H, H-1a)

^{31}P -NMR (CDCl_3) [ppm]: 32

8.2.2 Darstellung von *hexyl-2-Dimethylaminoethylmethacrylat (hexylDMAEMA)*

In einem 50 ml Schlenkrohr werden 5 ml (29,7 mmol) des Monomers DMAEMA (dest.) vorgelegt und ein Gemisch aus 14 ml Nitromethan und 2 ml Methanol zugegeben. Anschließend werden 1,5 äquivalente 1-Bromhexan (6,25 ml, 44,5 mmol) hinzugefügt und die Reaktionslösung unter Stickstoffatmosphäre bei 70 °C im Ölbad erhitzt. Nach 48 Stunden wird die Reaktion durch Eintauchen des Schlenkrohrs in Eis abgebrochen. Die Reaktionslösung wird am Rotationsverdampfer eingengt und in Diethylether ausgefällt. Nach dem Trocknen unter Vakuum wird zur Aufreinigung das Produkt in Methanol gelöst und erneut in Diethylether umgefällt sowie unter Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet.

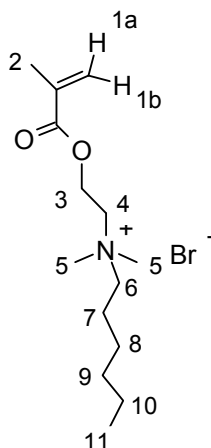


Abbildung: 8.2: *hexylDMAEMA*

Ausbeute: 89 % (8,5 g, 0,026 mol)

^1H -NMR (CDCl_3) [ppm]: 0,9 (3H, H-11); 1,4 (bm 6H, H-8-10); 1,8 (2H, H-7); 1,9 (t, 3H, H-2); 3,4 (6H, H-5); 3,6 (2H, H-6); 4,2 (2H, H-4); 4,5 (2H, H-3), 5,8 (1H, H-1a); 6,0 (1H, H-1b)

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3430 (C-N-Valenz); 2950 (C-H-Valenz); 2800 (N-CH₃-Valenz); 1730 (C=O-Valenz); 1640 (C=C-Valenz); 1450 (C-H-Valenz); 1240 (C-O-C-Valenz); 1150 (C-O-C-Valenz)

8.3 Darstellung der Polymere

8.3.1 Poly(dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat): Poly(DMMEP)

In einem ausgeheizten 50 ml Schlenkrohr werden unter Stickstoffatmosphäre 2,2218 g (0,01 mol) von DMMEP in einem Gemisch aus 6 ml Methanol und 4 ml Wasser gelöst. Es werden 0,5 ml (0,01 mol) einer 1,0 molaren Stammlösung (271 mg in 5 ml Wasser) des Initiators V50 zugegeben. Die Reaktion wird im Ölbad auf 55 °C für 18 Stunden erhitzt. Durch Eintauchen des Reaktionsgefäßes in Eis wird die Reaktion abgebrochen. Die Aufreinigung des Produktes erfolgt über eine 4tägige Dialyse gegen Wasser und anschließender Gefriertrocknung.

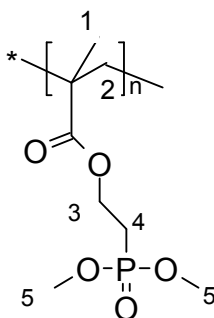


Abbildung 8.3: Poly(DMMEP)

Ausbeute:	48 wt.-% (1,07 g)
M_w (Wasser):	$2,2 \times 10^6$ g/mol
M_n	$5,32 \times 10^5$ g/mol
dn/dc	0,129 mL/g
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) [ppm]:	0,87 (m, 3H, H-1); 1,0 (bs, 2H, H-2); 2,2 (m, 2H, H-4); 3,82 (d; 6H, H-5); 4,18 (s, 2H, H-3)

8.3.2 Poly(aminoethylmethacrylathydrochlorid): Poly(AEMA)

In einem dickwandigen Schraubreagenzglas werden 2,3 ml einer 1 molaren Lösung aus 2-Aminoethylmethacrylathydrochlorid (414,05 mg, 2,5 mmol) in Methanol/Wasser (3:1) vorgelegt und 1 mol% (3,78 mg) AIBN zugesetzt. Die Reaktionslösung wird mit Stickstoff gespült und das Gefäß verschlossen bei 62 °C für 24 Stunden im Ölbad erhitzt. Die Polymerisation wird durch Eintauchen des Reaktionsgefäßes in Eis abgebrochen. Die Polymerlösung wird in Aceton ausgefällt und das Polymer durch Umfällen aus Methanol in Aceton gereinigt.

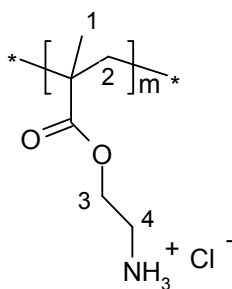


Abbildung 8.4: Poly(AEMA)

Ausbeute:	90% (374 mg, 2,26 mmol)
M_w :	nicht messbar aufgrund der Wechselwirkung mit dem Säulenmaterial
$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) [ppm]:	0,9 (m, 3H, H-1); 2,2 (m, 2H, H-2); 3,4 (s 6H, H-4); 4,3 (bs 2H, H-3)

8.3.3 Poly(diethylvinylphosphonat): Poly(DEVP)

Für die Homopolymerisation von Diethylvinylphosphonat (DEVP) in Substanz wird das Monomer in einem 10 ml Schlenkrohr vorgelegt und mit dem Initiator Dicumylperoxid (DCPO) versetzt (siehe Tabelle 8.1). Die Reaktionslösung wird mit Stickstoff gespült und verschlossen bei 130 °C im Ölbad erwärmt. Nach verschiedenen Reaktionszeiten wird die Polymerisation durch Eintauchen des Schlenkrohrs in Eis abgebrochen. Die Lösung wird verdünnt und in eiskaltem Hexan ausgefällt. Es bildet sich ein zähflüssiger Feststoff, der nicht isoliert werden kann.

Tabelle 8.1: Daten zur Homopolymerisation von DEVP mit DCPO als Initiator.

Probe	DEVP [g] (mmol)	DCPO [mol%]	Reaktionszeit [h]	Aufarbeitung	Ausbeute [%] (g)
a	2,0 (12,2)	1	4	verdünnt in MeOH	0
b	2,0 (12,2)	1	17	verdünnt in MeOH	0
c	2,0 (12,2)	2	48	verdünnt in trockenem THF	55 (1,1) nach ausfällen 1,3 (0,026 g)

Die Homopolymerisation von DEVP wird in Substanz mit AIBN als Initiator durchgeführt. Zunächst wird ein 10 ml Schlenkrohr ausgeheizt und mit Stickstoff gespült. Anschließend wird das DEVP vorgelegt und AIBN zugeben (siehe Tabelle 8.2). Die Reaktionslösung wird erneut ca. 10 Minuten mit Stickstoff gespült und im Ölbad bei 60 °C erhitzt. Nach 24 Stunden bzw. 48 Stunden wird die Polymerisation durch Eintauchen des Reaktionsgefäßes in Eis

abgebrochen und mit wenig trockenem THF verdünnt. Anschließend wird die Lösung in eiskaltem Hexan ausgefällt. Es bildet sich eine viskose Substanz. Diese wird zur Aufreinigung erneut in trockenem THF gelöst und in eiskaltem Hexan umgefällt. Nach dem Trocknen unter Vakuum bleibt das Produkt viskos und kann nicht isoliert werden.

Tabelle 8.2: Daten zur Homopolymerisation von DEVP mit AIBN als Initiator.

Probe	DEVP [g] (mmol)	AIBN [mol%]	Reaktionszeit [h]	Aufarbeitung	Ausbeute [%] (g)
d	2,0 (12,2)	2	48	verdünnt in THF	58 (1,2) nach ausfällen 1,8 (0,035) nach umfällen
e	2,1 (12,8)	10	24	verdünnt in THF	070 (1,5) nach ausfällen nicht isolierbar

8.3.4 Poly(dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat-co-2-dimethylaminoethyl-methacrylat): Poly(DMMEP-co-DMAEMA)

Für die Synthese des Copolymers Poly(DMMEP-co-DMAEMA) werden 1 molare Stammlösungen der Monomere DMMEP und DMAEMA in getrocknetem THF hergestellt. Dabei werden in dickwandigen Schraubreagenzgläsern verschiedene Volumenverhältnisse der Monomere mit einem Gesamtvolumen von 4 ml gewählt (siehe Tabelle 8.3).

Tabelle 8.3: Daten zur Copolymerisation von DMMEP mit DMAEMA.

Probe	DMMEP [ml] (mg)	DMAEMA [ml]	M _n [g/mol]	M _w [g/mol]	Ausbeute [%] (mg)
1a	3 (666,5)	1 (157,2)	--- ^a	--- ^a	99 (762,2)
1b	2,6 (586,6)	1,4 (240,4)	--- ^a	--- ^a	81 (675,1)
1c	2,5 (555,5)	1,5 (235,8)	69 100	87 900	92 (568,6)
1d	2,3 (520)	1,7 (267)	72 700	96 900	93 (719,3)
1e	2 (444,4)	2 (314,4)	88 300	105 700	95 (723,2)
1f	1,5 (333,3)	2,5 (393)	--- ^a	--- ^a	92 (665,5)
1g	1 (222,2)	3 (471,6)	252 000	283 000	77 (534,3)

^a Proben nicht messbar

Eine Stammlösung aus 260 mg AIBN und 5 ml getrocknetem THF wird vorbereitet und pro Ansatz 0,5 ml (0,16 mmol) an Initiator zugesetzt. Die Lösungen werden mit Stickstoff gespült und anschließend verschlossen im Ölbad auf 60 °C erhitzt. Die Polymerisation wird nach 19 Stunden durch Eintauchen der Reaktionsgefäße in Eis abgebrochen. Die Aufarbeitung erfolgt

durch Ausfällen in Diethylether, wobei einige Polymerlösungen vorher am Rotationsverdampfer eingengt werden. Zur Aufreinigung wird das Polymer in Methanol gelöst und insgesamt 2-mal in Diethylether umgefällt. Die Trocknung erfolgt bei Raumtemperatur im Trockenschrank unter Vakuum.

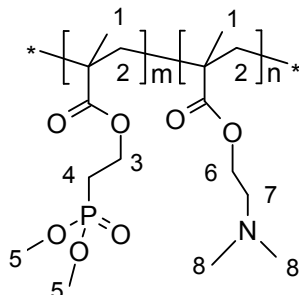


Abbildung 8.5: Poly(DMMEP-co-DMAEMA)

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) [ppm]: 0,9-1,1 (m, 6H, H-1); 1,9-2,1 (m, 4H, H-2); 2,2-2,4 (bs, 2H, H-4); 3,2 (bs 6H, H-8); 3,5-3,7 (d, 6H, H-5); 4,0 (bs, 2H, H-7); 4,2 (bs 2H, H-3); 4,4 (2H, H-6)

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3300 (C-N-Valenz); 2950 (C-H-Valenz); 2800 (N- CH_3 -Valenz); 1730 (C=O-Valenz); 1450 (C-H-Valenz); 1240 (C-O-C-Valenz); 1150 (C-O-C-Valenz)

8.3.5 Poly(dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat-co-2-(methacryloyoxy)ethyl-trimethylammoniumchlorid): Poly(DMMEP-co-*methyl*DMAEMA)¹⁸

Variante A

Es werden 1 molare Stammlösungen der Monomere DMMEP und *methyl*DMAEMA in Ethanol hergestellt und in dickwandigen Schraubreagenzgläsern verschiedene Verhältnisse mit einem Gesamtvolumen von 4 ml Monomerlösung vorgelegt (siehe Tabelle 8.4). Anschließend werden jedem Ansatz 1 mol% AIBN zugegeben. Die Reaktionslösungen werden mit Stickstoff gespült und anschließend verschlossen bei 65 °C im Ölbad erhitzt. Die Reaktion wird nach 2 und 18 Stunden durch Eintauchen der Schraubreagenzgläser in Eis abgebrochen und das Polymer durch Ausfällen in Diethylether und Trocknen unter Vakuum isoliert. Durch lösen in Ethanol und Umfällen in Diethylether wird das Polymer aufgereinigt und im Trockenschrank unter Vakuum getrocknet.

¹⁸ durchgeführt von Marco Waßmann im Rahmen eines Forschungspraktikums, TU Braunschweig

Tabelle 8.4: Daten zur Copolymerisation von DMMEP mit *methy*/DMAEMA.

Probe	DMMEP [ml] (mg)	<i>methy</i> /DMAEMA [ml] (mg)	Reaktionszeit [h]	Ausbeute [%] (mg)
2a	1,5 (333,3)	0,5 (103,9)	2	42 (210,8)
2b	1,3 (288,8)	0,7 (145,4)	2	68 (294,4)
2c	0,5 (111,1)	1,5 (311,6)	2	73 (307,1)
2d	0,15 (33,3)	0,6 (124,6)	2	49 (78,1)
2e	3 (666,5)	1 (207,7)	18	89 (780,2)
2f	2,5 (555,5)	1,5 (311,6)	18	86 (740,9)
2g	2,2 (488,8)	1,8 (373,9)	18	97 (840,4)

Variante B

Es werden 0,5 molare Stammlösungen der Monomere DMMEP und *methy*/DMAEMA in einem Gemisch aus Wasser/Ethanol (5:4) hergestellt. In dickwandigen Schraubreagenzgläsern werden die Monomerlösungen in verschiedenen Verhältnissen vorgelegt und 1 mol% V50 Initiator zugegeben (siehe Tabelle 8.5). Die Reaktionslösungen werden mit Stickstoff gespült und verschlossen auf 55 °C im Ölbad erhitzt. Die Polymerisation wird nach 3 Stunden 45 min und 23 Stunden durch Eintauchen der Reaktionsgefäße in Eis abgebrochen. Die Aufreinigung erfolgt über eine 3tägige Dialyse gegen Wasser und anschließender Gefriertrocknung zur Isolierung der Polymere.

Tabelle 8.5: Daten zur Copolymerisation von DMMEP mit *methy*/DMAEMA.

Probe	DMMEP [ml] (mg)	<i>methy</i> /DMAEMA [ml] (mg)	Reaktionszeit [h]	Ausbeute [%] (mg)
2h	0,5 (56)	1,5 (155,8)	~4	19 (37,9)
2i	0,7 (77,8)	1,3 (135)	~4	23 (48)
2j	1 (111,1)	1 (103,9)	~4	48 (104)
2k	1,3 (144,4)	0,7 (72,7)	~4	18 (40)
2l	1,5 (166,6)	0,5 (51,9)	~4	73 (159)
2m	1,7 (188,5)	0,3 (31,2)	~4	75 (165)
2n	0,3 (33,3)	1,7 (176,6)	~4	18 (38)
2o	1,0 (111,1)	1 (103,9)	23	77 (164,6)
2p	0,5 (56)	1,5 (155,8)	23	70 (147,5)

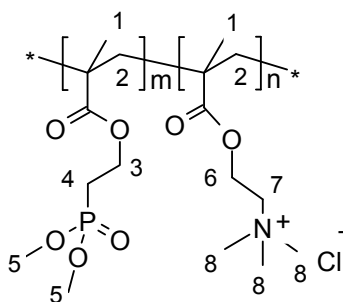


Abbildung 8.6: Poly(DMMEP-co-*methyl*DMAEMA)

M_w : nicht messbar aufgrund der Wechselwirkung mit dem Säulenmaterial

$^1\text{H-NMR}$ (Methanol- d_4) [ppm]: 0,9-1,1 (m, 6H, H-1); 1,9-2,1 (m, 4H, H-2); 2,2-2,4 (m, 2H, H-4); 3,2-3,4 (m 9H, H-8); 3,8 (d, 6H, H-5); 4,0-4,2 (bs, 4H, H-7, H-3); 4,4 (2H, H-6)

8.3.6 Poly(diethylvinylphosphonat-co-2-(methacryloyloxy)ethyltrimethylammonium-chlorid): Poly(DEVP-co-*methyl*DMAEMA)

Es werden 1 molare Stammlösungen der Monomere DEVP und *methyl*DMAEMA in Ethanol hergestellt. In dickwandigen Schraubreagenzgläsern werden die Lösungen in unterschiedlichen Verhältnissen vorgelegt und 2 mol% AIBN als Initiator zugegeben (siehe Tab. 8.6).

Tabelle 8.6: Daten für die Copolymerisation von DEVP mit *methyl*DMAEMA.

Probe	DEVP [ml] (mg)	<i>methyl</i> DMAEMA [ml] (mg)	Reaktionszeit [h]	Ausbeute [%] (mg)
3a	3,2 (525,2)	0,8 (166,2)	5	32 (223,6)
3b	4,8 (787,9)	1,2 (249,2)	24	30 (313,4)
3c	3 (492,4)	1 (207,7)	21	34 (239,9)
3d	2,5 (410,4)	1,5 (311,69)	21	51 (370,6)
3e	2 (328,3)	2 (415,4)	21	54 (398,3)
3f	1,5 (246,2)	2,5 (519,3)	21	63 (418,8)

Anschließend werden die Reaktionslösungen mit Stickstoff gespült und verschlossen bei 65 °C im Ölbad erwärmt. Die Polymerisation wird nach verschiedenen Reaktionszeiten durch Eintauchen der Gefäße in Eis abgebrochen. Einige Ansätze werden mit wenigen Tropfen Ethanol verdünnt und anschließend in Diethylether ausgefällt sowie unter Vakuum

getrocknet. Durch erneutes Lösen in Methanol und Umfällen in Diethylether werden die Polymere aufgereinigt und unter Vakuum getrocknet.

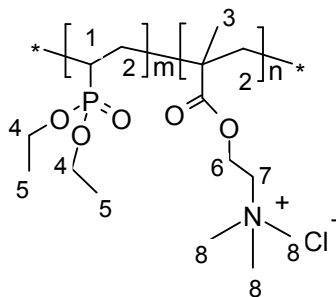


Abbildung 8.7: Poly(DEVP-co-*methyl*DMAEMA)

M_w: nicht messbar aufgrund der Wechselwirkung mit dem Säulenmaterial

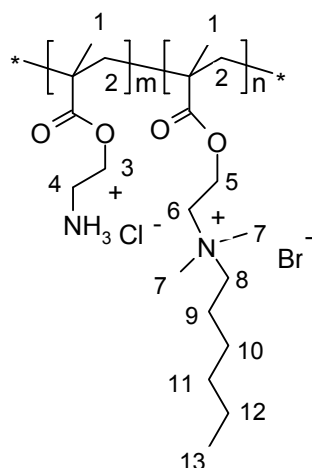
¹H-NMR (Methanol-d₄) [ppm]: 0,9-1,6 (m, 9H, H-3, H-5); 1,8-2,2 (bs, 5H, H-1, H-2); 3,2-3,4 (m 9H, H-8); 3,8-4,0 (2H, H-7); 4,0-4,1 (bs, 4H, H-4); 4,4 (2H, H-6)

8.3.7 Poly(aminoethylmethacrylathydrochlorid-co-*hexyl*-2-dimethylaminoethylmethacrylat): Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA)

Für die Synthese des Copolymers werden 1 molare Stammlösungen der Monomere AEMA und *hexyl*/DMAEMA in 22,3 ml Wasser und 2,7 ml konzentrierte Salzsäure hergestellt. In dickwandigen Reagenzgläsern werden unterschiedliche Verhältnisse gewählt und zu jedem Ansatz werden 0,5 ml einer Stammlösung des Initiators V50 (54,24 mg, 0,04 mol) zugegeben (siehe Tabelle 8.7). Anschließend werden die Reaktionslösungen mit Stickstoff gespült und verschlossen bei 60 °C im Ölbad erhitzt. Die Reaktion wird nach unterschiedlichen Reaktionszeiten durch Eintauchen der Gefäße in Eis abgebrochen. Die Aufreinigung erfolgt über eine 3tägige Dialyse gegen Wasser und anschließender Gefriertrocknung zur Isolierung der Polymere.

Tabelle 8.7: Daten zur Copolymerisation von AEMA mit *hexyl*/DMAEMA.

Probe	AEMA [ml] (mg)	<i>hexyl</i> /DMAEMA [ml] (mg)	Reaktionszeit [h]	Ausbeute [%] (mg)
4a	1,75 (289,8)	0,25 (80,6)	2	71 (262,8)
4b	1,5 (248,4)	0,5 (161,1)	2	57 (231,4)
4c	1,25 (207)	0,75 (s41,7)	2	58 (259,1)
4d	1,0 (165,6)	1,0 (322,3)	2	45 (221,5)
4e	0,75 (124,2)	1,25 (402,9)	2	51 (267,8)
4f	0,5 (82,8)	1,5 (483,4)	2	42 (236,1)
4g	1,75 (289,8)	0,25 (80,6)	5,5	82 (303,7)
4h	3 (496,9)	1 (322,3)	17	81 (664,2)
4i	2,5 (414,1)	1,5 (483,4)	17	69 (625,7)
4j	2 (331,2)	2 (644,6)	17	63 (619,1)
4k	1,5 (248,4)	2,5 (805,7)	17	59 (622,2)

**Abbildung 8.8:** Poly(AEMA-co-*hexyl*/DMAEMA)

M_w : nicht messbar aufgrund der Wechselwirkung mit dem Säulenmaterial

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) [ppm]: 0,9-1,1 (m, 9H, H-1, H-13); 1,2-1,5 (bs, 8H, H-9-12); 1,7-2,2 (m, 4H, H-2); 3,2 (bs 6H, H-7); 3,3-3,5 (4H, H-4, H-8); 3,8 (bs, 2H, H-6); 4,1- 4,4 (m, 4H, H-3, H-5)

8.4 Polymeranaloge Reaktion

8.4.1 Poly(dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat-co-hexylDMAEMA):

Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA)

Für die Darstellung von Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA) werden die Copolymer 1a bis 1g in 4 ml eines Gemisches aus Nitromethan/Methanol (7:1) in dickwandigen Reagenzgläsern gelöst und mit 2 äquivalenten 1-Bromhexan bezogen auf den Anteil an DMAEMA im Copolymer versetzt (siehe Tabelle 8.8). Anschließend werden die Polymerlösungen mit Stickstoff gespült, verschlossen und für 72 Stunden bei 70 °C im Ölbad erhitzt. Die Reaktion wird durch eintauchen der Reaktionsgefäße in Eis abgebrochen. Die Polymerlösungen werden in Diethylether ausgefällt und im Trockenschrank bei Raumtemperatur getrocknet. Zur Aufreinigungen werden die Polymer erneut in Methanol gelöst, in Diethylether umgefällt und wie zuvor getrocknet.

Tabelle 8.8: Daten zur Quartärnisierung von Poly(DMMEP-co-DMAEMA).

Polymer	Einwaage Polymer [mg]	Anteil an DMAEMA [mmol]	Bromhexan [μl] (mmol)	Ausbeute [%] (mg)	Quartärnierungs- grad [%]
1a	59	0,25	20 (0,14)	65 (46,3)	40
1b	166	0,36	84 (0,60)	84 (179,9)	86
1c	200	0,30	83 (0,59)	83 (209,5)	65
1c ^a	200	0,30	83 (0,59)	71 (179,2)	80
1d	200	0,39	111 (0,79)	75 (199,8)	76
1e	200	0,41	118 (0,83)	75 (201,6)	75
1f	200	0,62	180 (1,28)	79 (239,1)	97
1g	200	0,63	230 (1,64)	83 (278,4)	84

^a 2. charge der Quartärnisierung für Copolymer 1c

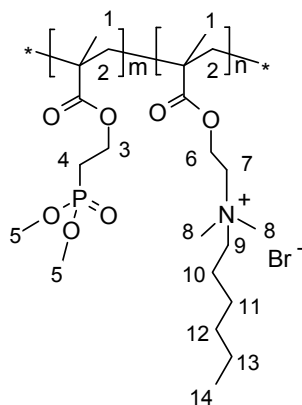


Abbildung 8.9: Poly(DMMEP-co-hexylDMAEMA)

^1H -NMR (Methanol- d_4) [ppm]:	0,9-1,1 (m, 6H, H-1); 1,0 (3H, H-14); 1,3-1,6 (8H, H10-H13); 1,9-2,1 (m, 4H, H-2); 2,2-2,4 (bs, 2H, H-4); 3,1-3,2 (m 8H, H-8, H-9); 3,5-3,7 (d, 6H, H-5); 4,0 (bs, 2H, H-7); 4,2 (bs 2H, H-3); 4,4 (2H, H-6)
IR (KBr) [cm^{-1}]:	3300 (C-N-Valenz); 2950 (C-H-Valenz); 2800 (N- CH_3 -Valenz); 1730 (C=O-Valenz); 1450 (C-H-Valenz); 1240 (C-O-C-Valenz); 1150 (C-O-C-Valenz)

8.5 Verwendete Geräte und Methoden

NMR-Spektroskopie

Die ^1H -NMR und ^{31}P -NMR Messungen wurden im NMR-Labor der Chemischen Institute der Technischen Universität Braunschweig aufgenommen. Die Messungen wurden an einem Spektrometer der Fa. Bruker des Typs AM 400 bzw. AV 300 aufgenommen. Die ^1H -Spektren wurden bei 300 oder 400 MHz und die ^{31}P -Spektren bei 120 MHz oder 160 MHz gemessen. Die Konzentration der Probe betrug 20 bis 30 mg auf 0,8 ml Lösungsmittel. Die verwendeten deuterierten Lösungsmittel sind bei den jeweiligen Synthesen in Kapitel 8.2 bis 8.4 angegeben. Mit Ausnahme von CDCl_3 , wo Tetramethylsilan als Standard zugegeben wurde, wurden die Lösungsmittel relativ zum Restlösungsmittelpeak kalibriert.

IR-Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden an einem FT-IR Equinox der Fa. Bruker aufgenommen. Dabei wurden die Feststoffe in Form von KBr-Presslingen gegen Luft als Referenz vermessen. Es wurde eine Probenkonzentration von 1,5 bis 2,5 mg auf 150 mg KBr gewählt. Die Auswertung der IR-Spektren erfolgte mit der OPUS-Software Version 3.

Elementaranalyse

Die Elementaranalyse (EA) wurde an einem Gerät der Fa. Carlo Erba Intrumentazione am Institut für Pharmazeutische Chemie der Technischen Universität Braunschweig durchgeführt.

Brechungsinkrement dn/dc

Das Brechungsinkrement dn/dc wurde mit einem BTC Brookhaven Gerät DnDc2010 der Fa. PSS mit der BI-DNDCW Software bei einer Wellenlänge von 620 nm bestimmt. Für die

Ermittlung des dn/dc mittels linearer Regression wurden mindestens fünf Proben mit unterschiedlicher Polymerkonzentration zwischen 1 bis 10 mg/ml in dem gleichen Lösungsmittel, wie es für die GPC-Messungen verwendet wurde, gemessen.

Gelpermeations-Chromatographie (GPC)

Die Messung des Molekulargewichts erfolgte an einer Messapparatur bestehend aus einem Differential-Refraktometer des Typs RI-101 der Fa. Shodex, einem DAWN DSP Lichtstreuendetektor der Fa. Wyatt und einer Merck HITACHI L6000A Pumpe. Die Polymere wurden mit einer Konzentration von 1 mg/ml entgastem Millipore-Wasser mit 0,5 wt% Natriumazid (zum Schutz vor Keimen) gelöst. Die Messung wurde bei 40 °C und einer Flussrate von 1 ml/min durchgeführt. Es wurde eine Säule PL-aquagel-OH Guard sowie zwei PL-aquagel-OH Mixed Säulen verwendet. Unter Verwendung der Software ASTRA der Fa. Wyatt erfolgt die Bestimmung des Molekulargewichtes relativ zu Pullulan Standards und des zuvor bestimmten Brechungsinkrements der jeweiligen Polymere.

Spin-Coating

Die Aufbringung der Polymerfilme erfolgte über Spin-Coating mit einem am Institut für Technische Chemie entwickelten NANOMAG-DA. Bei einer Geschwindigkeit von 2000 rpm und einer Dauer von 30 Sekunden wurde die Polymerlösung mit einer Konzentration von 10 mg/ml aufgebracht verwendet. Für die Beschichtung bei verschiedenen pH-Werten (pH 9 bis pH 12) wurde ein Puffersystem aus Natriumhydroxid und Borsäure in einem Gemisch aus Methanol/Wasser (9:1) verwendet.

Dip-Coating

Das Aufbringen der Polymerfilme über Dip-Coating wurde in einem Schüttler der Fa. IKA® KS 260 basic bei einer konstanten Geschwindigkeit von 200 U/min durchgeführt. Die Titansubstrate wurden in kleine Schnappdeckelgläser in eine Polymerlösung mit einer Konzentration 0,14 mg/ml eingelegt und für 24 Stunden gerührt. Es wurde Millipore-Wasser oder Methanol (HPLC-Qualität) als Lösungsmittel verwendet. Für die Beschichtung bei verschiedenen pH-Werten (pH 9 bis pH 12) wurde ein Puffersystem aus Natriumhydroxid und Borsäure in einem Gemisch aus Methanol/Wasser (9:1) verwendet.

Herstellung teilbeschichteter Proben

Für die Herstellung teilbeschichteter Proben wurde aus einer Buchklebefolie eine Schablone hergestellt. Dabei wurde eine runde Form mit einem Durchmesser von 13 mm aus der Klebefolie ausgeschnitten und in der Mitte ein Loch mit einem Durchmesser von 6 mm ausgestanzt. Die unbeschichteten Ti6Al4V-Substrate wurden mit der Schablone abgeklebt und das Polymer über Spin-Coating mit einer Konzentration von 10 mg/ml aufgebracht. Die Schablone wurde anschließend entfernt und das beschichtete Substrat im Trockenschrank bei 120 °C für ca. 19 Stunden getempert.

Ellipsometrie

Die ellipsometrischen Messungen wurden an einem Multiskop der Fa. Optrel durchgeführt unter Einsatz einer festen Retarderstellung ($\lambda/4$ -Plättchen). Unter Verwendung der Methode der Null-Ellipsometrie wurden Polarisator und Analysator so lange gegeneinander gedreht, bis keine Lichtintensität mehr gemessen werden konnte. Für jedes Titansubstrat wurden vor dem Beschichtungsprozess Referenzmessungen durchgeführt und der Brechungsindex und Extinktionskoeffizient der unbeschichteten Titanoberfläche bestimmt. Unter der Annahme eines Einschichtsystems wurden die Winkel Δ und ψ mit dem angenommenen Wert des Brechungsindex der Polymerschicht von 1,5 in Bezug gesetzt und die Schichtdicke bestimmt. Es wurden fünf ellipsometrische Messungen an verschiedenen Stellen jeder Substratoberfläche durchgeführt.

Kontaktwinkelmessungen

Für die Kontaktwinkelmessungen wurde das Gerät der Fa. Krüss vom Typ G1 unter Einsatz der Tilting-Plate Methode verwendet. In einem Neigungswinkel von 45° wurde Wasser als flüssige Phase mit einem definierten Volumen aufgebracht. Zur Bestimmung des Kontaktwinkels wurden pro Substratoberfläche fünf Messungen vorgenommen. Es wurde der vorderen (advancing) und hintere (receding) Kontaktwinkel gemessen.

Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS)

Die Untersuchungen mittels Röntgenphotoelektronenspektroskopie wurden von Dr. Wibke Dempwolf in der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt. Die Messungen wurden an einem Gerät der Fa. Perkin Elmer Physical Electronics, Typ PHI 6500 unter Verwendung einer monochromatischen Al K α Strahlung (13 kV) vorgenommen. Die Übersichtsspektren wurden in einem Bereich von 0 bis 1100 eV

mit einem Take-Off Angle von 45° bei einer Dauer von 30 Minuten aufgenommen. Jede Probe wurde an drei verschiedenen Punkten vermessen. Die Auswertung erfolgte mit der Software CASA.

Rasterkraftmikroskopie (AFM)

Die Untersuchungen mittels Rasterkraftmikroskopie wurden von Dr. Wibke Dempwolf am Institut für Physikalische Chemie der Technischen Universität Clausthal an einem Gerät Multi ModeTM Scanning Probe Microscope Nano Scape III der Fa. Digital Instruments vorgenommen. Zur Aufnahme und Auswertung der Daten wurde das Programm NanoScope® III Version 5.13r9 der Fa. Digital Instruments verwendet.

Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Das Degradationsverhalten der Polymere wurde an einem Gerät des Typs TG 209 der Fa. Netzsch gemessen. Die Proben wurden in einem Quarztiegel eingewogen und mit einer Heizrate von $20\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ unter Stickstoffstrom vermessen. Die Auswertung erfolgt mittels der Netzsch Proteus Software 4.2.

9. Literatur

- [1] E.G. Zoetendal, E.E. Vaughan, De. Vos, M. Willen *Mol. Microbiol.* **2006**, 59, 1639-1650.
- [2] J. Taylor, K. Lai, M. Davies, D. Clifton, I. Ridley, P. Biddulph, *Environ. Intern.* **2011**, 37, 1019-1029.
- [3] M.B. Emelko, N. Tufenkji, *Water Research* **2010**, 44, 1027.
- [4] J. Stewart, R. Gast, R. Fujioka, H. Solo-Gabriele, J. S. Meschke, L. Amaral-Zettler, E. del Castillo, M. Polz, T. Collier, M. Strom, C. Sinigalliano, P. Moeller, A.F. Holland, *Environ. Health* **2008**, 7, S3.
- [5] H. Tlaskalova-Hogenova, R. Stepankova, T. Hudcovic, L. Tuckova, B. Cukrowska, *Immun. Lett.* **2004**, 93, 97-108.
- [6] I. Feuerpfeil, J. López-Pila, R. Schmidt, E. Schneider, R. Szewzyk, *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* **1999**, 42, 37-50.
- [7] R. Meyer, *Dtsch. Ärztebl.* **2000**, 97, A-1736.
- [8] H.-G. Sonntag, G. Darai et al. *Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen* **2012**, 433-447, Springer Berlin Heidelberg.
- [9] C. Zalavras, T. Christensen, N. Rigopoulos, P. Holtom, M. Patzakis, *Clin. Orthopaedics and Relat. Res.* **2009**, 467, 1715-1720.
- [10] G. Thevendran, A. Younger, *Foot & Ankle Specialist* **2012**, 5, 124-127.
- [11] G. Tager, D. Nast-Kolb, *Chirurg* **2000**, 7, 850-868.
- [12] M. Kraft, *Orthopädie-Technik* **2007**.
- [13] K. Hagberg, R. Branemark, *Prosthetics and Orthotics International* **2001**, 25, 186-194.
- [14] B. Per-Ingvar, *The Journal of Prosthetic Dentistry* **1983**, 50, 399-410.
- [15] P.I. Branemark, R. Adell, T. Albrektsson, U. Lekholm, S. Lundkvist, B. Rockler, *Biomaterials* **1983**, 4, 25-28.
- [16] G. Lundborg, P.I. Branemark, *Scand J Plast Reconstr Hand Surg* **2011**, 35, 311-315.
- [17] K.-H. Staubach, H. Gründel, *Biomed. Technik* **2001**, 46, 355-361.
- [18] M. Lundberg, K. Hagberg, J. Bullington, *Prosthetics and Orthotics International* **2011**, 35, 207-214.
- [19] J. Tillander, K. Hagberg, L. Hagberg, R. Branemark, *Clin. Orthopaedics and Relat. Res.* **2010**, 468, 2781-2788.
- [20] H.-C. Flemming, J. Wingender, *Chemie in unserer Zeit* **2002**, 36, 30-42.
- [21] S. Schulte, H.-C. Flemming, *Chemie Ingenieur Technik* **2006**, 78, 1683-1689.
- [22] H.-C. Flemming, T.R. Neu, D.J. Wozniak, *Journal of Bacteriology* **2007**, 189, 7945-7947.
- [23] S.P. Galanakis, S.A. Papadakis, K. Kateros, I. Papakostas, G. Macheras, *Orthopaedics and Trauma* **2009**, 23, 175-179.
- [24] S. Schauder, B.L. Bassler, *Genes & Development* **2001**, 15, 1468-1480.
- [25] A. Camilli, B.L. Bassler, *Science* **2006**, 311, 1113-1116.
- [26] R.M. Donlan, J.W. Costerton, *Clin. Microb. Rev.* **2002**, 15, 167-193.
- [27] A.B. Estrela, M.G. Heck, W.-R. Abraham, *Curr. Med. Chem.* **2009**, 16, 1512-1530.
- [28] A.B. Estrela, W.-R. Abraham, *Pharm.* **2010**, 3, 1374-1393.
- [29] J. Tiller, H.G. Börner, J.-F. Lutz *Antimicrobial Surfaces Bioactive Surfaces*, **2011**, 240, 193-217 Springer Berlin, Heidelberg.
- [30] V. Antoci, C.S. Adams, J. Parvizi, H.M. Davidson, R.J. Composto, T.A. Freeman, E. Wickstrom, P. Ducheyne, D. Jungkind, I.M. Shapiro, N.J. Hickok *Biomaterials* **2008**, 29, 4684-4690.
- [31] O.P. Edupuganti, V. Antoci, S.B. King, B. Jose, C.S. Adams, J. Parvizi, I.M. Shapiro, A.R. Zeiger, N.J. Hickok, E. Wickstrom, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 2692-2696.

- [32] B. Jose, V. Antoci, A.R. Zeiger, E. Wickstrom, N.J. Hickok, *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 1041-1048.
- [33] C.H. Ho, J. Tobis, C. Sprich, R. Thomann, J.C. Tiller, *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 957-961.
- [34] A. Charlot, V. Sciannamea, S. Lenoir, E. Faure, R. Jerome, C. Jerome, C. Van De Weerd, J. Martial, C. Archambeau, N. Willet, A.-S. Duwez, C.-A. Fustin, C. Detrembleur, *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 4117-4125.
- [35] V. Sambhy, M.M. MacBride, B.R. Peterson, A. Sen, *JACS* **2006**, *128*, 9798-9808.
- [36] G. Cheng, H. Xue, Z. Zhang, S. Chen, S. Jiang, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 8831-8834.
- [37] L. Ionov, A. Synytska, E. Kaul, S. Diez, *Biomacromolecules* **2009**, *11*, 233-237.
- [38] J.C. Tiller, S.B. Lee, K. Lewis, A.M. Klibanov, *Biotechnol. Bioeng.* **2002**, *79*, 465-471.
- [39] J. Lin, J.C. Tiller, S.B. Lee, K. Lewis, A.M. Klibanov, *Biotechnol. Lett.* **2002**, *24*, 801-805.
- [40] S.B. Lee, R.R. Koepsel, S.W. Morley, K. Matyjaszewski, Y. Sun, A.J. Russell, *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 877-882.
- [41] J. Huang, H. Murata, R.R. Murata, A.J. Russell, K. Matyjaszewski, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1396-1399.
- [42] J.C. Tiller, *PNAS* **2001**, *98*, 5981-5985.
- [43] H. Murata, R.R. Koepsel, K. Matyjaszewski, A.J. Russell, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4870-4879.
- [44] V. Sambhy, B.R. Peterson, A. Sen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1250-1254.
- [45] K. Kuroda, W.F. DeGrado, *JACS* **2005**, *127*, 4128-4129.
- [46] E.F. Palermo, K. Kuroda, *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 1416-1428.
- [47] C. Pfaffenroth *Dissertation* **2012**, TU Braunschweig.
- [48] N. Adden *Dissertation* **2006**, TU Braunschweig.
- [49] A. Palmquist, F. Lindberg, L. Emanuelsson, R. Branemark, H. Engqvist, P. Thomsen, *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.* **2009**, *91B*, 309-319.
- [50] D.M. Dohan Ehrenfest, P.G. Coelho, B.-S. Kang, Y.-T. Sul, T. Albrektsson, *Trends in Biotechnology* **2010**, *28*, 198-206.
- [51] R.C.A. Wolfgang Knoll, *Functional Polymer Films* **2011**, WILEY-VCH, Weinheim.
- [52] A. Ulman, *An Introduction to Ultrathin Organic Films: From Langmuir-Blodgett to Self-Assembly* **1991**, Academic Press, San Diego, CA.
- [53] S. Tosatti, R. Michel, M. Textor, N.D. Spencer, *Langmuir* **2002**, *18*, 3537-3548.
- [54] A. Ulman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1533-1554.
- [55] R. Hofer, M. Textor, N.D. Spencer, *Langmuir* **2001**, *17*, 4014-4020.
- [56] B.M. Silverman, K.A. Wieghaus, J. Schwartz, *Langmuir* **2004**, *21*, 225-228.
- [57] E.S. Gawalt, M.J. Avaltroni, N. Koch, J. Schwartz, *Langmuir* **2001**, *17*, 5736-5738.
- [58] G. Guerrero, P.H. Mutin, A. Vioux, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 4367-4373.
- [59] M. Textor, L. Ruiz, R. Hofer, A. Rossi, K. Feldman, G. Hahner, N.D. Spencer, *Langmuir* **2000**, *16*, 3257-3271.
- [60] S. Marcinko, A.Y. Fadeev, *Langmuir* **2004**, *20*, 2270-2273.
- [61] E. Bae, W. Choi, J. Park, H.S. Shin, S.B. Kim, J.S. Lee, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 14093-14101.
- [62] N. Adden, L.J. Gamble, D.G. Castner, A. Hoffmann, G. Gross, H. Menzel, *Langmuir* **2006**, *22*, 8197-8204.
- [63] J. Schwartz, M.J. Avaltroni, M.P. Danahy, B.M. Silverman, E.L. Hanson, J.E. Schwarzbauer, K.S. Midwood, E.S. Gawalt, *Mater. Sci. Eng. C* **2003**, *23*, 395-400.
- [64] E.S. Gawalt, M.J. Avaltroni, M.P. Danahy, B.M. Silverman, E.L. Hanson, K.S. Midwood, J.E. Schwarzbauer, J. Schwartz, *Langmuir* **2002**, *19*, 200-204.
- [65] P. Sevilla, *Journal of Physics: Conference Series* **2010**, *252*, 012009.

- [66] N. Adden, L.J. Gamble, D.G. Castner, A. Hoffmann, G. Gross, H. Menzel, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 2552-2559.
- [67] V. Zoulalian, S. Zürcher, S. Tosatti, M. Textor, S. Monge, J.-J. Robin, *Langmuir* **2009**, *26*, 74-82.
- [68] J.L. Dalsin, P.B. Messersmith, *Materials Today* **2005**, *8*, 38-46.
- [69] J.L. Dalsin, L. Lin, S. Tosatti, J. Vörös, M. Textor, P.B. Messersmith, *Langmuir* **2005**, *21*, 640-646.
- [70] H. Lee, N.F. Scherer, P.B. Messersmith, *PNAS* **2006**, *103*, 12999-13003.
- [71] L.A. Ruiz-Taylor, T.L. Martin, P. Wagner, *Langmuir* **2001**, *17*, 7313-7322.
- [72] L.G. Harris, S. Tosatti, M. Wieland, M. Textor, R.G. Richards, *Biomaterials* **2004**, *25*, 4135-4148.
- [73] B. Watts, L. Thomsen, J.R. Fabien, P.C. Dastoor, *Langmuir* **2002**, *18*, 148-154.
- [74] M. Schmidt, *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery* **2001**, *121*, 403-410.
- [75] D.A. Puleo, R.A. Kissling, M.S. Sheu, *Biomaterials* **2002**, *23*, 2079-2087.
- [76] B. Finke, F. Hempel, H. Testrich, A. Artemenko, H. Rebl, O. Kylian, J. Meichsner, H. Biederman, B. Nebe, K.D. Weltmann, K. Schröder, *Surf. Coat. Technol.* **2011**, *205*, Supplement 2, S520-S524.
- [77] T. Groth, B. Seifert, G. Malsch, W. Albrecht, D. Paul, A. Kostadinova, N. Krasteva, G. Altankov, *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, *61*, 290-300.
- [78] C.S. Adams, V. Antoci, G. Harrison, P. Patal, T.A. Freeman, I.M. Shapiro, J. Parvizi, N.J. Hickok, S. Radin, P. Ducheyne, *J. Orthop. Res.* **2009**, *27*, 701-709.
- [79] M.M. Tunney, G. Ramage, S. Patrick, J.R. Nixon, P.G. Murphy, S.P. Gorman, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 3002-3005.
- [80] M. Zasloff, *Nature* **2002**, *415*, 389-395.
- [81] K. Matsuzaki, *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* **1999**, *1462*, 1-10.
- [82] H. Menzel, *Nachrichten aus der Chemie* **2011**, *59*, 1039-1043.
- [83] C. Chen, F. Pan, S. Zhang, J. Hu, M. Cao, J. Wang, H. Xu, X. Zhao, J.R. Lu, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 402-411.
- [84] Y. Shai, *Peptide Science* **2002**, *66*, 236-248.
- [85] R.M. Epand, R.F. Epand, *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* **2009**, *1788*, 289-294.
- [86] R. Kügler, O. Bouloussa, F. Rondelez, *Microbiol.* **2005**, *151*, 1341-1348.
- [87] D. Gidalevitz, Y. Ishitsuka, A.S. Muresan, O. Konovalov, A.J. Waring, R.I. Lehrer, K.Y.C. Lee, *PNAS* **2003**, *100*, 6302-6307.
- [88] I. Ivanov, S. Vemparala, V. Pophristic, K. Kuroda, W.F. DeGrado, J.A. McCammon, M.L. Klein, *JACS* **2006**, *128*, 1778-1779.
- [89] A.D. Barros, K.F. Albertin, J. Miyoshi, I. Doi, J.A. Diniz, *Microelectron. Eng.* **2009**, *87*, 443-446.
- [90] Z. Cheng, X. Zhu, Z.L. Shi, K.G. Neoh, E.T. Kang, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, *44*, 7098-7104.
- [91] T. Ravikumar, H. Murata, , R.R. Koepsel, A.J. Russell, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 2762-2769.
- [92] J. Huang, R.R. Koepsel, H. Murata, W. Yang, S.B. Lee, T. Kowalewski, A.J. Russell, K. Matyjaszewski, *Langmuir* **2008**, *24*, 6785-6795.
- [93] O. Bouloussa, F. Rondelez, V. Semetey, *Chem. Commun.* **2008**, 951-953.
- [94] H. Han, J. Wu, C.W. Avery, M. Mizutani, X. Jiang, M. Kamigaito , Z. Chen, C. Xi, K. Kuroda, *Langmuir* **2011**, *27*, 4010-4019.
- [95] G.J. Gabriel, J.A. Maegerlein, C.F. Nelson, J.M. Dabkowski, T. Eren, K. Nüsslein, G.N. Tew, *Chemistry – A European Journal* **2009**, *15*, 433-439.
- [96] E.F. Palermo, I. Sovadinova, K. Kuroda, *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 3098-3107.
- [97] F. Zhang, Z. Zhang, X. Zhu, E.-T. Kang, K.-G. Neoh, *Biomaterials* **2008**, *29*, 4751-4759.
- [98] P.-H. Chua, K.-G. Neoh, E.-T. Kang, W. Wang, *Biomaterials* **2008**, *29*, 1412-1421.

- [99] C. Pfaffenroth, A. Winkel, W. Dempwolf, L.J. Gamble, D.G. Castner, M. Stiesch, H. Menzel, *Macromol. Biosci* **2010**, *11*, 1515-1525.
- [100] B. Tieke, *Makromolekulare Chemie* **2005**, Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- [101] M.D. Lechner, K. Gehrke, E.H. Nordmeier, *Makromolekulare Chemie* **1993**, Birkhäuser Verlag, Basel.
- [102] H.-G. Elias, *Makromoleküle Band 1 Grundlagen*, Hüthig&Wepf Verlag, Basel, Heidelberg, New York.
- [103] J.M.G. Cowie, *Chemie und Physik der Polymeren* **1976**, Verlag Chemie, Weinheim, New York.
- [104] T. Kelen, F. Tüdös, *React. Kinet and Catal. Lett.* **1974**, *1*, 487-492.
- [105] H.G. Tompkins, *A User's Guide to Ellipsometry* **1993**, Academic Press. Inc., San Diego.
- [106] A. Ulman, *Characterization of Organic Thin Film* **1995**, Materials Characterization Series Butterworth-Heinemann, Stoneham.
- [107] G. Menges, *Werkstoffkunde Kunststoffe* **2002**, Carl Hanser Verlag, München, Wien.
- [108] M.W. et. al., *Nanotechnologie* **2008**, Oldenbourg Verlag, München.
- [109] P.L.G. Adam, G. Stark, *Physikalische Chemie und Biophysik* **2009**, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- [110] N.K. Adam, G. Jessop, *J. Chem. Soc.* **1925**, *127*, 1863.
- [111] F.M. Fowkes, W.D. Harkins, *J. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 3377.
- [112] G. Binnig, C.F. Quate, C. Gerber, *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56*, 930-933.
- [113] H. Bubert, H. Jenett, *Surface and Thin Film Analysis* **2003**, Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- [114] Q. Zhong, D. Inniss, K. Kjoller, V.B. Elings, *Surface Science Letters* **1993**, *290*, L688-L692.
- [115] E.L. Hanson, J. Schwartz, B. Nickel, N. Koch, M.F. Danisman, *JACS* **2003**, *125*, 16074-16080.
- [116] I. Pelsöczy, K. Turzó, C. Gergely, A. Fazekas, I. Dékány, F. Cuisinier, *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 3345-3350.
- [117] S. Gourianova *Dissertation* **2003**, TU Clausthal-Zellerfeld.
- [118] H.R. Verma, *Atomic and Nuclear Analytical Methods* **2007**, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- [119] C.-M. Chan, *Polymer Surfaces modification and characterization* **1994**, Carl Hanser Verlag, Munich, Vienna, New York.
- [120] I.S.G. John C. Vickerman, *Surface analysis the principal techniques* Chichester **2009**, Wiley Verlag.
- [121] D. Brune, R. Hellborg, H.J. Whitlow, O. Hundrei, *Surface Characterization A User's Sourcebook* **1997**, Wiley VCH Verlag, Weinheim.
- [122] N. Adden, A. Hoffmann, G. Gross, H. Windhagen, F. Thorey, H. Menzel, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* **2007**, *18*, 303-316.
- [123] C. Vuong, M. Otto, *Microbes and Infection* **2002**, *4*, 481-489.
- [124] E. Berndt, S. Behnke, M. Ulbricht, *Eur. Polym. J.* **2011**, *47*, 2379-2390.
- [125] A.E. Madkour, J.M. Dabkowski, K. Nüsslein, G.N. Tew, *Langmuir* **2008**, *25*, 1060-1067.
- [126] T. Sato, M. Hasegawa, M. Seno, T. Hirano, *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *109*, 3746-3752.
- [127] B. Bingöl *Dissertation* **2007**, Universität Mainz.
- [128] K.L. Thompson, E.S. Read, S.P. Armes, *Polym. Degrad. Stab.* **2008**, *93*, 1460-1466.
- [129] C. Bressy-Brondino, B. Boutevin, Y. Hervaud, M. Gaboyard, *J. Appl. Polym. Sci.* **2002**, *83*, 2277-2287.
- [130] F. Cornelius *Dissertation* **2009**, TU Braunschweig.
- [131] G. Lu, D. Wu R. Fu, *Reac. Funct. Polym.* **2007**, *67*, 355-366.

- [132] O. Nazarova, Y. Zolotova, A. Dobrodumov, I. Malakhova, E. Vlasova, E. Panarin, *Russ. J. Appl. Chem.* **2009**, *82*, 1600-1605.
- [133] G.A. Mun, V.V. Khutoryanskiy, Z.S. Nurkeeva, A.D. Sergaziyev, N.A. Fefelova, J.M. Rosiak, *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.* **2004**, *42*, 1506-1513.
- [134] G. Sun, M. Zhang, J. He, P. Ni, *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.* **2009**, *47*, 4670-4684.
- [135] N.A. Fefelova, Z.S. Nurkeeva, G.A. Mun, V.V. Khutoryanskiy, *Int. J. Pharm.* **2007**, *339*, 25-32.
- [136] J.-I. Jin, H.-S. Byun, S.-M. Lee, *J. Macromol. Sci. A - Chem.* **1981**, *16*, 953-963.
- [137] W.N.E. van Dijk-Wolthuis, P. van de Wetering, W.L.J. Hinrichs, L.J.F. Hofmeyer, R.M.J. Liskamp, D.J.A. Crommelin, W.E. Hennink, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 687-692.
- [138] N. Cao, X. Wang, L. Song, Z.C. Zhang, *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.* **2007**, *45*, 5800-5810.
- [139] O. Prucker, C.A. Naumann, J. Rühe, W. Knoll, C.W. Frank, *JACS* **1999**, *121*, 8766-8770.
- [140] C. Lorenz, A. Hoffmann, G. Gross, H. Windhagen, P. Dellinger, K. Möhwald, W. Dempwolf, H. Menzel, *Macromol. Biosci.* **2011**, *11*, 234-244.
- [141] C. Viornery, Y. Chevolot, D. Léonard, B.-O. Aronsson, P. Péchy, H.J. Mathieu, P. Descouts, M. Grätzel, *Langmuir* **2002**, *18*, 2582-2589.
- [142] A. Nanci, J.D. Wuest, L. Peru, P. Brunet, V. Sharma, S. Zalzal, M.D. McKee, *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *40*, 324-335.
- [143] G. Beamson, D. Briggs, *High Resolution XPS of Organic Polymers* **1992**, John Wiley & Sons Ltd, New York.
- [144] N. Griep-Raming, M. Karger, H. Menzel, *Langmuir* **2004**, *20*, 11811-11814.
- [145] L. Nurmi, S. Holappa, A. Nykänen, J. Laine, J. Ruokolainen, J. Seppälä, *Polymer* **2009**, *50*, 5250-5261.
- [146] M. Bucolo, S. Carnazza, L. Fortuna, M. Frasca, S. Guglielmino, G. Marletta, C. Satriano, *ISCAS* **2004**, 689-692.
- [147] A.R. Statz, A.E. Barron, P.B. Messersmith, *Soft Matter* **2008**, *4*, 131-139.
- [148] E. Wintermantel, A. Bruinink, M. Petitmermet, J. Blum, S.-W. Ha *Biokompatibilität* **2009**, Springer Verlag.
- [149] T. Mosmann, *Journal of Immunological Methods* **1983**, *65*, 55-63.
- [150] Y. Tamada, E.A. Kulik, Y. Ikada, *Biomaterials* **1995**, *16*, 259-261.
- [151] W. Heuer, A. Winkel, P. Kohorst, A. Lutzke, C. Pfaffenroth, H. Menzel, F.W. Bach, J. Volk, G. Leyhausen, M. Stiesch, *Adv. Eng. Mater.* **2010**, *12*, B609-B617.
- [152] L. Pruitt, H. Kausch, N. Anjum, Y. Chevolot, B. Gupta, D. Léonard, H. Mathieu, L. Pruitt, L. Ruiz-Taylor, M. Scholz *Adv. Polym. Sci.* **2003**, *162*, 63-93.
- [153] J. B. Gardner and B. G. Harper, *J. Appl. Polym. Sci.* **1965**, *9*, 1585-1591.
- [154] J.L. Calvet, D. Grafahrend, D. Klee, M. Möller, *J. Mater. Sci.: Mater. in Med.* **2008**, *19*, 1631-1636.
- [155] S. Fleith, A. Ponche, R. Bareille, J. Amédée, M. Nardin, *Colloids Surf., B* **2005**, *44*, 15-24.
- [156] T.K. Sham, M.S. Lazarus, *Chem. Phys. Lett.* **1979**, *68*, 426-432.
- [157] C.D. Wagner, W.M. Roggs, L.E. Davis, J.F. Moulder, G.E. Muilenberg, *Handbook of X-Ray Photoelectron Spectroscopy* **1979**, Perkin-Elmer Corporation Physical Electronics Division, Minnesota.
- [158] V. Rerat, V. Pourcelle, S. Devouge, B. Nysten, J. Marchand-Brynaert, *J Polymer Sci B Polymer Phys* **2010**, *48*, 195-208.
- [159] R.B. Diego, M.S. Sánchez, J.G. Ribelles, M.M. Pradas, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2007**, *18*, 693-698.

10. Anhang

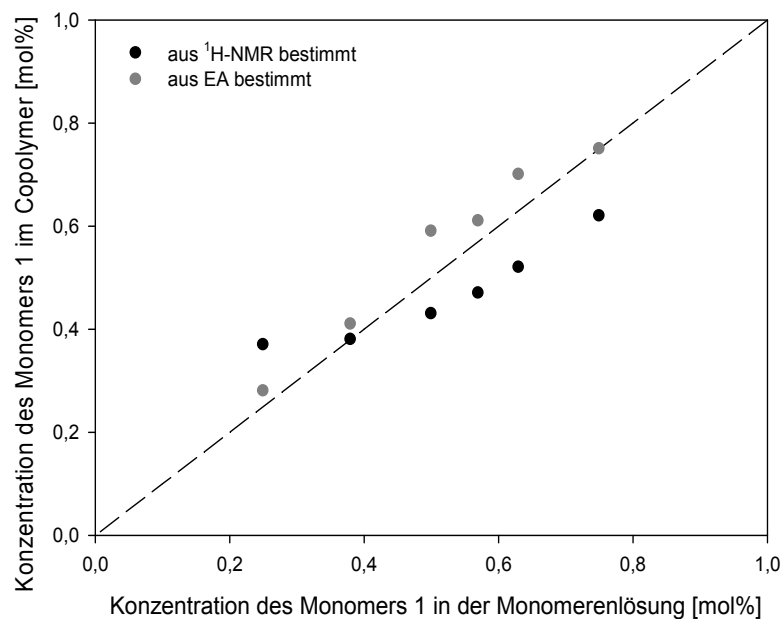


Abbildung 10.1: Copolymerisationsdiagramm mit der Auftragung der Monomerkonzentration von Monomer 1 (DMMEP) gegenüber der Konzentration im Copolymer: Zusammensetzung im Copolymer bestimmt mittels ^1H -NMR Spektroskopie und Elementaranalyse (EA).

Tabelle 10.1: Zusammensetzung und Ausbeuten der synthetisierten Copolymer Poly(-DMMEP-co-*methy*/DMAEMA).

Polymer	eingesetzten Comonomeren- Verhältnis DMMEP: <i>methy</i> /DMAEMA in %	Zusammensetzung im Copolymer in %		Ausbeute in %
		nach ^1H -NMR	nach EA	
2e	75:25	68:32	81:19	89
2f	63:37	60:40	68:32	86
2g	55:45	54:46	63:37	97
2o	50:50	52:48	42:58	77
2p	25:75	36:64	20:80	70

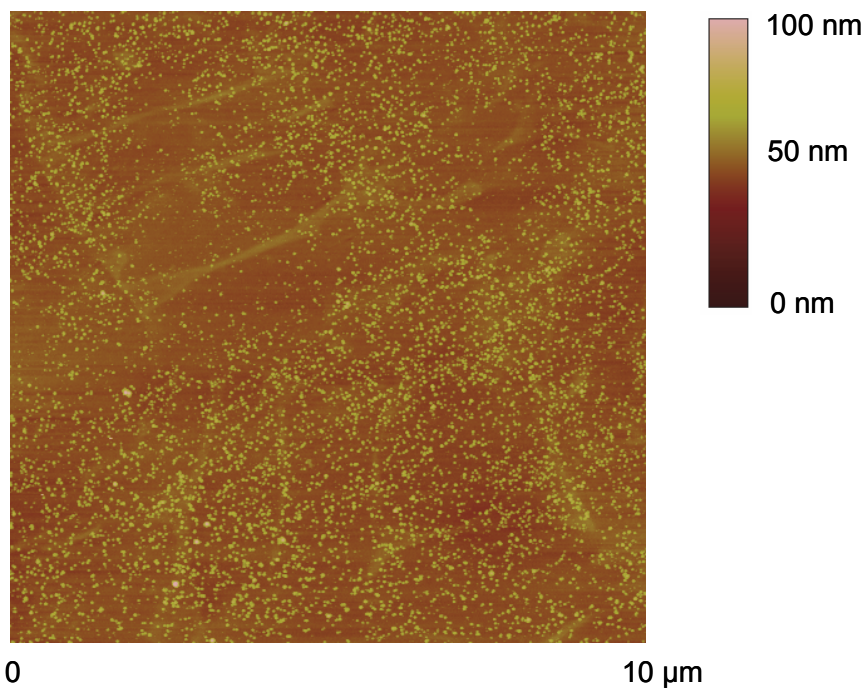


Abbildung 10.2: AFM Höhenprofil der Beschichtung von Copolymer 1f mit 38 mol% DMMEP mit einem Bildausschnitt von $10 \times 10 \mu\text{m}$.

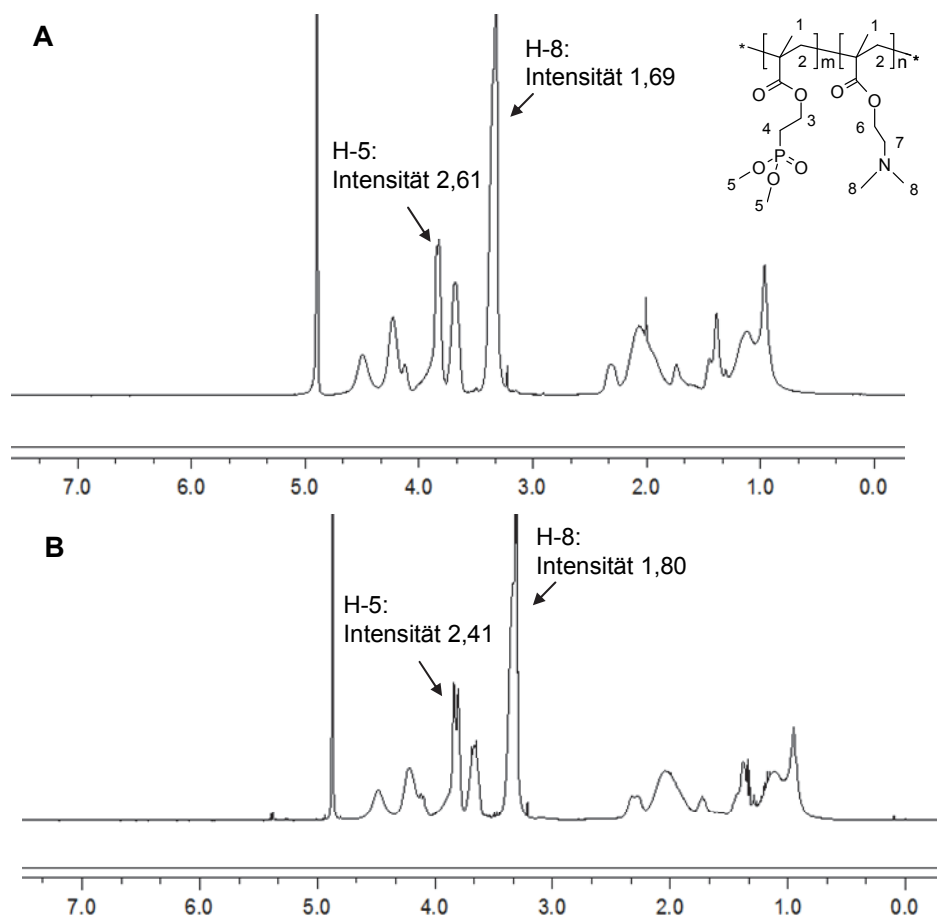


Abbildung 10.3: ^1H -NMR Spektrum des Copolymers 1b vor der Sterilisation A und nach der Sterilisation B: Es wurden die Integralintensitäten für die Protonen H-8 und H-5 bestimmt.